UNIVERZITET U BEOGRADU

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Marija M. Babić

SINTEZA I KARAKTERIZACIJA POLIMERNIH MATRICA NA BAZI 2-HIDROKSIALKIL AKRILATA I ITAKONSKE KISELINE ZA KONTROLISANO OTPUŠTANJE OKSAPROZINA

doktorska disertacija

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Marija M. Babić

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLYMERIC MATRICES BASED ON 2-HYDROXYALKYL ACRYLATE AND ITACONIC ACID FOR CONTROLLED RELEASE OF OXAPROZIN

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015.

MENTOR: _____

Dr Simonida Lj. Tomić, vanredni profesor
Tehnološko-metalurškog fakulteta,
Univerziteta u Beogradu

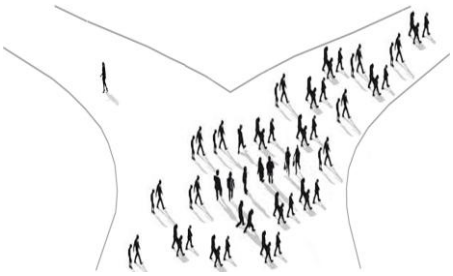
ČLANOVI KOMISIJE: _____

Dr Gordana S. Ušćumlić, redovni profesor
Tehnološko-metalurškog fakulteta,
Univerziteta u Beogradu

_____

Dr Biljana Đ. Božić, vanredni profesor
Biološkog fakulteta,
Univerziteta u Beogradu

DATUM ODBRANE:_____



Zahvaljujem se mentoru, prof. dr Simonidi Tomić, članovima Komisije: prof. dr Gordani Ušćumlić i prof. dr Biljani Božić, kao i profesorkama dr Jovanki Filipović i dr Ljiljani Kolar Anić i svim kolegama koji su svojim korisnim savetima, primedbama, sugestijama, strpljenjem i podrškama doprineli da ova disertacija poprimi svoj konačan oblik.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Bojanu Božiću koji mi je omogućio rad sa aktivnom supstancom korišćenom u okviru ove disertacije, kao i na lepoj i uspešnoj saradnji za koju se iskreno nadam da će se nastaviti.

Zahvaljujem se prof. dr Suzani Dimitrijević i prof. dr Vencislavu Grabulovu na podršci i pomoći da se urade određene karakterizacije uzoraka.

Volela bih da izrazim svoju iskrenu zahvalnost dipl. inž. tehnol. Saši Trifunoviću na DSC analizi uzoraka.

Zahvaljujem se nastavnom i nenastavnom osoblju Katedre za ogransku hemijsku tehnologiju i Katedre za organsku hemiju koji su posredno ili neposredno doprineli uspešnom završetku ove doktorske disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem onima koji su nesebično uvek uz mene –
svojim prijateljima i
***svojoj porodici**.*

Ovaj rad posvećujem

Babić Draganu.

Sinteza i karakterizacija polimernih matrica na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline za kontrolisano otpuštanje oksaprozina

IZVOD

U cilju unapređenja efikasnosti farmakoterapije razvojem sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci u ovom radu su sintetisane dve serije hidrogelova reakcijom polimerizacije preko slobodnih radikala, na 50 °C u toku 24 h. Prvu seriju hidrogelova čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline (P(HEA/IK)), dok drugu seriju čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline (P(HPA/IK)). U obe serije hidrogelova variran je molski udeo itakonske kiseline (0,0; 2,0; 3,5; 5,0 i 7,0 mol % IK) kako bi se ispitao uticaj sastava hidrogela na njegova svojstva kao matrice za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Polazni monomeri, 2-hidroksietil akrilat i 2-hidroksipropil akrilat, su odabrani kao strukturni analozi temeljno ispitanog i opsežno primenjivanog (naročito u biomedicini i farmaciji) monomer - 2-hidroksietil metakrilat-a. U reakcijama kopolimerizacije je korišćena itakonska kiselina zbog njenog značajnog doprinosa hidrofilnosti i pH-osetljivosti sintetisanih kopolimera.

Hidrofobna aktivna supstanca - oksaprozin je uspešno sintetisana i ugrađena u ispitivane hidrogelove metodom difuzije. Pored aktivne supstance oksaprozin, u cilju određivanja podobnosti sintetisanih hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, korišćeni su i derivati oksaprozina (Ni(II) i Zn(II) kompleks sa oksaprozinom), kao potencijalno biološki aktivne supstance sa antiproliferativnim efektom. U cilju ispitivanja uticaja hemijskog sastava kao i prisustva aktivne supstance na svojstva sintetisanih hidrogelova, izvršena je analiza hemijske strukture, morfologije, termičkih svojstava, bubrenja i „inteligentnog“ ponašanja sintetisanih hidrogelova, pre i nakon ugradnje aktivne supstance. Pored toga, ispitana je efikasnost ugradnje aktivne supstance u sintetisane hidrogelove, kao i mogućnost njihove primene u vidu polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

S obzirom da terapija oksaprozinom podrazumeva uglavnom njegovu dugoročnu oralnu upotrebu i neretko je praćena ozbiljnim neželjenim efektima posebno izraženim

u gornjem delu gastrointestinalnog trakta, ideja je da se dizajnira polimerna matrica koja će sprečiti otpuštanje oksaprozina u kiseloj sredini želuca i na taj način redukovati ozbiljne neželjene efekte koje ova aktivna supstanca ispoljava na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta. Iz tog razloga, otpuštanje oksaprozina iz sintetisanih polimernih matrica je ispitivano u medijumima pH vrednosti 2,20 i 7,40, na 37 °C. Eksperimentalni podaci dobijeni kontrolisanim otpuštanjem aktivnih supstanci u medijumu pH vrednosti 7,40 su analizirani primenom: Higuči (Higuchi), Ritger-Pepas (Ritger-Peppas), Pepas-Sahlin (Peppas-Sahlin) i Pepas-Sahlin (m=0,5) modela.

Rezultati postignuti u okviru ove disertacije doprinose razvoju novih sofisticiranih polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Efikasnost ugradnje hidrofobne aktivne supstance - oksaprozin (preko 75 %) i njegovih derivata (preko 90 %), kao i dobijeni profili otpuštanja, čine ispitivane hidrogelove pogodnim kandidatima za izradu polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Ispitivani sistemi su naročito pogodni za otpuštanje aktivnih supstanci koje je neophodno zaštititi ili sprečiti njihovo otpuštanje (zbog neželjenih efekata) u kiselim uslovima želuca i obezbediti njihovo otpuštanje u donjem delu gastrointestinalnog trakta. Profili otpuštanja aktivne supstance iz ispitivanih polimernih sistema se mogu jednostavno dizajnirati variranjem odnosa polaznih monomera. Specifična svojstva sintetisanih hidrogelova, ispitana i analizirana u okviru ove disertacije, čine polimerne sisteme na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline, posebno interesantnim za buduća klinička ispitivanja u cilju poboljšanja efikasnosti farmakoterapije i komplijanse kod pacijenata, kao i prevencije neželjenih efekata aktivne supstance.

Ključne reči: Hidrogelovi · Polimerne matrice · 2-Hidroksietil akrilat · 2-Hidroksipropil akrilat · Itakonska kiselina · Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci · Oksaprozin.

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo
Uža naučna oblast: Hemijsko inženjerstvo
UDK broj: 678.744:547.462.3:547.293

Synthesis and Characterization of Polymeric Matrices Based on 2-hydroxyalkyl acrylate and Itaconic Acid for Controlled Release of Oxaprozin

ABSTRACT

In order to improve the efficiency of pharmacotherapy by development of the sophisticated drug delivery systems, two series of hydrogels were synthesized in this study. Hydrogels were synthesized by the free-radical crosslinking polymerization at 50 °C for 24 h. In the first series the polymeric hydrogels are based on 2-hydroxyethyl acrylate and itaconic acid, whereas in the second series the samples are based on 2-hydroxypropyl acrylate and itaconic acid. In order to investigate the influence of the hydrogel composition on its properties in both series of the hydrogels amount of the itaconic acid was varied (0.0; 2.0; 3.5; 5.0 and 7.0 mol %). The started monomers were selected as structural analogs of 2-hydroxyethyl methacrylate which is thoroughly investigated and widely used monomer especially in biomedical and pharmaceutical applications. In order to improve the hydrophilicity and pH-sensitivity of the synthesized copolymers itaconic acid was used.

The hydrophobic drug - oxaprozin was successfully synthesized and incorporated into the hydrogels by diffusion method. For evaluation of synthesized hydrogels as polymeric matrices for drug delivery complexes of oxaprozin with transition metal (Ni(II) and Zn(II)) as potential antiproliferative agents were used also. In order to investigate the influence of the chemical composition and of the presence of drug on the properties of synthesized hydrogels, chemical structure, morphology, thermal properties, swelling and „intelligent'' behavior of synthesized hydrogels were examined. The entrapment efficiency of drug into synthesized hydrogels and their application in controlled drug delivery systems were investigated.

The therapeutic benefits of the oxaprozin are accompanied with several serious side effects in upper gastrointestinal tract. The goal of this study was to design the polymeric matrices which can prevent the release of oxaprozin in the acidic environment of the stomach and reduce its side effects in upper part of the gastrointestinal tract. Therefore, the study of drug release from investigated hydrogels

in a media of different pH values (2.20 and 7.40) was conducted. The obtained experimental release data at pH 7.40 and 37°C were analyzed using: Higuchi, Ritger-Peppas, Peppas-Sahlin and Peppas-Sahlin (*m=0.5*) models.

The results obtained and presented in this doctoral dissertation can contribute to the development of new efficient polymeric drug delivery systems. The entrapment efficiency of hydrophobic drug – oxaprozin (over 75 %) and of their derivates (over 90 %) and the release profiles obtained make both series of hydrogels favorable for the design of polymeric matrices in drug delivery applications. Investigated systems are particularly suitable for drugs unstable in acidic conditions or drugs with side effects in upper part of the gastrointestinal tract. The drug release profiles for both series of hydrogels can be tuned by varying the ratio of the starting monomers. The unique performances of the synthesized polymeric matrices, demonstrated in this study, make them especially important for future clinical trials in order to improve the efficiency of pharmacotherapy and compliance, as well as reducing the side effects of drugs.

Keywords: Hydrogels · Polimeric matrices · 2-Hydroxyethyl acrylate · 2-Hydroxypropyl acrylate · Itaconic acid · Drug delivery systems · Oxaprozin.

Academic Expertise: Technology Engineering
Major in: Chemical Engineering
UDC number: 678.744:547.462.3:547.293

SKRAĆENICE

AIC – Akaike Informacioni Kriterijum (engl. Akaike Information Criterion)

BCS – Biofarmaceutski klasifikacioni sistem (engl. Biopharmaceutical Classification System)

COX – Ciklooksigenaza

DSC – Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

EGDMA – Etilen glikol dimetakrilat

FT-IC – Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

HEA – 2-hidroksietil akrilat

HPA – 2-hidroksipropil akrilat

IK – Itakonska kiselina

KPS – Kalijum persulfat

log *P* – Koeficijent raspodele u sistemu oktanol/voda

NSAIL – Nesteroidni antiinflamatorni lekovi

NiOXA – Ni(II) kompleks sa oksaprozinom

OXA – Oksaprozin

p.a. – Pro analysi

PGE-2 – Prostaglandin E2

PHEA – poli(2-hidroksietil akrilat)

P(HEA/IK) – poli(2-hidroksietil akrilat/itakonska kiselina)

PHPA – poli(2-hidroksipropil akrilat)

P(HPA/IK) – poli(2-hidroksipropil akrilat/itakonska kiselina)

pK_a – Konstanta disocijacije kiseline

pK_b – Konstanta disocijacije baze

SEM – Skenirajuća elektronska mikroskopija

TEMED – *N,N,N',N'*–tetrametiletilen diamin

UV-Vis – Ultraljubičasta-vidljiva spektrofotometrija

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

ZnOXA – Zn(II) kompleks sa oksaprozino

SADRŽAJ:

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DEO 3

2.1. Hidrogelovi 3
2.1.1. Podela hidrogelova 5
2.1.2. Metode sinteze hidrogelova 6
2.1.3. Struktura i svojstva polimerne mreže 8
2.1.3.1. Određivanje veličine pora polimerne mreže 10
2.1.3.2. Bubrenje hidrogelova 11
2.1.4. Hidrogelovi osetljivi na dejstvo spoljnih stimulansa 12
2.1.4.1. pH-osetljivi hidrogelovi 13
2.1.4.2. Temperaturno osetljivi hidrogelovi 15
2.1.5. Primena hidrogelova 17

2.2. Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 18
2.2.1. Konvencionalna farmakoterapija 18
2.2.2. Tipovi sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 19
2.2.3. Prednosti i nedostaci sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 22
2.2.4. Polimeri u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 23
2.2.5. Mehanizmi otpuštanja aktivne supstance iz polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje 25
2.2.5.1. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom 26
2.2.5.2. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano degradacijom sistema 27
2.2.5.3. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano bubrenjem 28
2.2.5.4. Sistemi kod kojih je otpuštanje kontrolisano dejstvom stimulansa 29
2.2.6. Primena hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 29
2.2.6.1. pH-osetljivi hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 30
2.2.6.2. Temperaturno osetljivi hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 32
2.2.7. Načini ugradnje aktivne supstance u hidrogel 33
2.2.8. Putevi primene sistema za kontrolisano otpuštanje na bazi hidrogelova 34
2.2.8.1. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za peroralnu primenu 35
2.2.8.2. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za okularnu primenu 37
2.2.8.3. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za transdermalnu primenu 38
2.2.8.4. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za subkutanu primenu 39

2.3. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) 40
2.3.1. Mehanizam delovanja NSAIL-a 40
2.3.2. Neželjeni efekti NSAIL-a 41
2.3.3. Oksaprozin 44
2.3.3.1. Sinteza oksaprozina 44
2.3.3.2. Fizičko-hemijska svojstva oksaprozina 46
2.3.3.3. Mehanizam delovanja i neželjeni efekti oksaprozina 47
2.3.3.4. Farmaceutske dozne forme oksaprozina 48

3. EKSPERIMENTALNI DEO 50

3.1. Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline 50
3.1.1. Materijali 50
3.1.2. Sinteza hidrogelova 52

3.2. Sinteza aktivne supstance 53
3.2.1. Materijali 53
3.2.2. Sinteza oksaprozina i njegovih derivata 53

3.3. Ugradnja aktivne supstance u hidrogelove 54
3.3.1. Efikasnost ugradnje aktivne supstance 55

3.4. Karakterizacija hidrogelova pre i posle ugradnje aktivne supstance 55
3.4.1. Ispitivanje bubrenja hidrogelova 55
3.4.1.1. Ispitivanje pH i temperaturne osetljivosti 56
3.4.1.2. Ispitivanje reverzibilnog ponašanja pri bubrenju hidrogelova 56
3.4.1.3. Ispitivanje bubrenja u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta 56
3.4.1.4. Određivanje kinetičkih parametara bubrenja 57
3.4.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IC) 57
3.4.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) 57
3.4.4. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC) 58
3.4.5. Ispitivanje naelektrisanja površine hidrogelova (PZC) 58

3.5. In vitro ispitivanje otpuštanja oksaprozina i njegovih derivata 59
3.5.1. Primena različitih modela na podatke dobijene otpuštanjem aktivnih supstanci iz sintetisanih hidrogelova 59

4. REZULTATI I DISKUSIJA 61

4.1. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje oksaprozina 61
4.1.1. Strukturna svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 62
4.1.2. Morfologija PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 63
4.1.3. Termička svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 65
4.1.4. Analiza naelektrisanja površine PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 66
4.1.5. Bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 67
4.1.5.1. pH- i temperaturno osetljivo bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 68
4.1.5.2. Reverzibilno ponašanje pri bubrenju PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 69
4.1.5.3. Bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta 70
4.1.5.4. Kinetika bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 72
4.1.5.5. Parametri mreže PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 73
4.1.6. Efikasnost ugradnje oksaprozina u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove 74
4.1.7. In vitro otpuštanje oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 74
4.1.8. Analiza procesa kontrolisanog otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova 76

4.2. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje oksaprozina 78
4.2.1. Strukturna svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 79

4.2.2. Morfologija PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 80
4.2.3. Termička svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 83
4.2.4. Analiza naelektrisanja površine PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 84
4.2.5. Bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 85
4.2.5.1. pH- i temperaturno osetljivo bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 85
4.2.5.2. Reverzibilno ponašanje pri bubrenju PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 87
4.2.5.3. Bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta 88
4.2.5.4. Kinetika bubrenja PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 89
4.2.5.5. Parametri mreže PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 90
4.2.6. Efikasnost ugradnje oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove 91
4.2.7. *In vitro* otpuštanje oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 91
4.2.8. Analiza procesa kontrolisanog otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova 93

4.3. Procena podobnosti hidrogelova na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 95
4.3.1. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom 96
4.3.2. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Ni(II) kompleksa sa oksaprozinom 101

4.4. Uticaj sastava hidrogelova na njihova svojstva kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje oksaprozina 107

4.5. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 109

4.6. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva hidrogelova na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci 111

5. ZAKLjUČAK 114

6. LITERATURA 118

7. BIOGRAFIJA KANDIDATA 137

8. IZJAVA O AUTORSTVU 138

9. IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE VERZIJE I ELEKTRONSKE VERZIJE 139

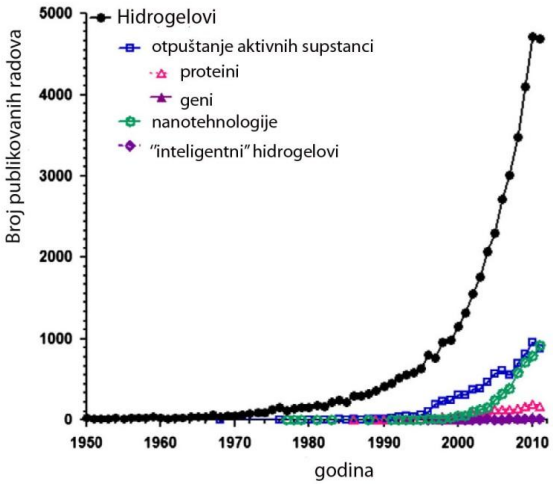
10. IZJAVA O KORIŠĆENJU 140

1. UVOD

Osnovni cilj savremene medicine je rana i precizna dijagnostika poremećaja u organizmu praćena efikasnom terapijom sa minimalnom mogućnošću pojave sporednih/neželjenih efekata. Povećanje efikasnosti konvencionalne farmakoterapije podrazumeva razvoj lekova koji su selektivniji u svom delovanju, bez neželjenih efekata, velike stabilnosti, odgovarajućeg farmakokinetičkog profila i poboljšane komplijanse. Dva osnovna pristupa razvoju ovakvih lekova bazirana su na otkriću novih hemijskih entiteta i/ili dizajniranju sofisticiranih nosača aktivnih supstanci.

Razvojni put novog leka, od njegove hemijske sinteze ili izolovanja iz prirodnih izvora do uvođenja u terapiju, veoma je složen i dugotrajan. Smatra se da je u proseku potrebno sintetisati tri do četiri hiljade novih supstanci da bi se posle dugogodišnjeg iscrpnog ispitivanja dobio jedan jedini uspešan lek. Sa druge strane, razvoj od postojećeg molekula aktivne supstance preko konvencionalne dozne forme do novog, sofisticiranog sistema za kontrolisano otpuštanje, može značajno poboljšati svojstva leka u pogledu njegove bezbednosti, efikasnosti i komplijanse. S toga, veliki broj naučnih istraživanja u medicinskoj hemiji i farmaciji je usmeren upravo na razvoj i dizajn savremenih sistema za kontrolisano otpuštanje novih, kao i već postojećih aktivnih supstanci. Kao potencijalni materijali za izradu efikasnih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci veliko interesovanje su izazvali hidrogelovi.

Pojava hidrogelova sa mogućnošću primene u biomedicini datira od davne 1960. godine, kada su Vičerle i Lim (Wichterle i Lim) objavili rad o upotrebi hidrofilne polimerne mreže poli(2-hidroksietil metakrilat)-a za izradu kontaktnih sočiva. Od tada, interesovanje za hidrogelove eksponencijalno raste, što potvrđuje i broj publikovanih radova o hidrogelovima poslednjih decenija (Slika 1).



Slika 1. Broj publikovanih radova o hidrogelovima od 1950. Godine [1].

Hidrogelovi su trodimenzionalni, fizički ili hemijski umreženi polimeri, koji imaju sposobnost da apsorbuju veliku količinu vode ili drugih fiziioloških fluida, uz očuvanje svoje dimenzionalne i strukturne stabilnosti. Veliki sadržaj vode, meka i elastična konzistencija, minimalna tendencija adsorpcije proteina na površinu hidrogela, su osnovna svojstva koja čine hidrogelove veoma sličnim živim tkivima. Sposobnost hidrogelova da vezuju i otpuštaju različite molekule omogućava njihovu efikasnu primenu u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci za peroralnu, okularnu, parenteralnu, transdermalnu i subkutanu primenu. 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 svojstava. Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci izrađeni na bazi „inteligentnih“ hidrogelova omogućavaju otpuštanje određene količine aktivne supstance, na određenom mestu u određenom vremenskom periodu, čime se redukuje frekventnost doziranja, poboljšava terapijska efikasnost i komplijansa i smanjuje mogućnost pojave neželjenih efekata.

Predmet ove doktorske disertacije je sinteza i karakterizacija dve serije „inteligentnih“ hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata i 2-hidroksipropil akrilata sa različitim udelima itakonske kiseline, u cilju dizajniranja efikasnog sistema za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance - oksaprozin. Polazni monomeri (2-hidroksietil akrilat i 2-hidroksipropil akrilat) su odabrani kao strukturni analozi detaljno ispitanog i opsežno primenjivanog (naročito u biomedicini i farmaciji) monomera, 2-hidroksietil metakrilat-a. Aktivna supstanca - oksaprozin pripada grupi nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL-ova) i koristi se za lečenje brojnih inflamatornih mišićno-skeletnih oboljenja. Gastrointestinalne komplikacije prouzrokovane upotrebom NSAIL-ova predstavljaju najučestalije i u celini najozbiljnije neželjene efekte ovih lekova koje je neophodno redukovati.

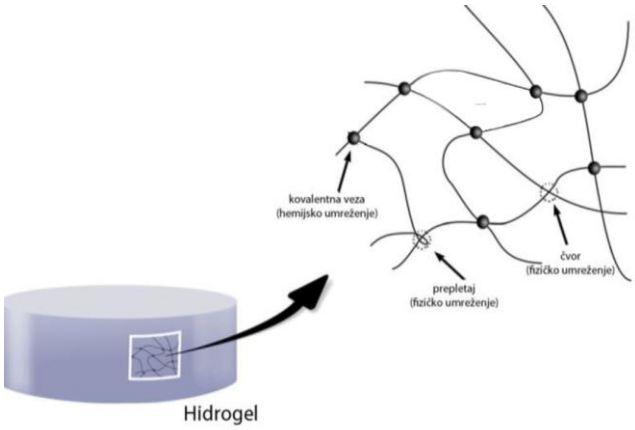
U cilju dizajniranja efikasnog sistema za kontrolisano otpuštanje oksaprozina, sintetisani hidrogelovi su ispitivani kao polimerne matrice za ugradnju i kontrolisano otpuštanje oksaprozina i njegovih derivata. Analizirana su strukturna, morfološka, termička i svojstva bubrenja hidrogelova, pre i posle ugradnje aktivne supstance. Pored toga, ispitana je efikasnost ugradnje aktivne supstance, njen uticaj na „inteligentno“ ponašanje hidrogelova, kao i kinetika otpuštanja u medijumima različitih pH vrednosti.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Hidrogelovi

Hidrogelovi su trodimenzionalni polimerni materijali koji su sposobni da bubre bez rastvaranja, apsorbujući veliku količinu vode ili drugih fizioloških fluida, uz očuvanje svoje dimenzionalne i strukturne stabilnosti [2]. Trodimenzionalni integritet hidrogelova u njihovom nabubrelom stanju održavaju fizička i/ili hemijska umreženja unutar strukture hidrogela. Mali površinski napon između graničnih površina pri kontaktu sa fiziološkim fluidima, meka konzistencija i fizička svojstva slična živim tkivima, visoka permeabilnost, sposobnost da vezuju i otpuštaju širok spektar molekula na kontrolisan način, čine hidrogelove izuzetno pogodnim materijalima za primenu u biomedicini i farmaciji [3-7].

Količina fluida koju hidrogel apsorbuje uslovljena je prisustvom specifičnih funkcionalnih grupa u polimernoj strukturi (-COOH, -OH, $-CONH_2$, -CONH- i $-SO_3H$) [8]. Adekvatnim odabirom monomera koji poseduju specifične funkcionalne grupe moguće je dizajnirati hidrogelove različitih svojstava što proširuje spektar oblasti njihove primene. Pored adekvatnog odabira polaznih monomera, na svojstva hidrogelova utiče i način, kao i stepen njihovog umreženja. U zavisnosti od prirode umreženja polimernih lanaca razlikuju se hemijski i fizički umreženi hidrogelovi. Hemijski umreženi hidrogelovi nastaju formiranjem kovalentnih veza u polimeru pri reakciji polimerizacije u kojoj se pored monomera koristi i agens za umrežavanje. Fizički umreženi hidrogelovi poseduju fizičke sastavne domene koje čine: vodonične veze, van der Valsove (van der Waals) sile, čvorovi, prepletaji lanaca, jonske interakcije [9]. Fizički umreženi hidrogelovi se nazivaju i reverzibilnim jer je moguće promenom uslova (pH vrednosti/jonske jačine/temperature) okolnog medijuma oslabiti nastalo fizičko umreženje ili ga potpuno ukloniti [10]. Na Slici 2 prikazana je polimerna mreža hidrogela sa fizičkim i hemijskim umreženjima.



Slika 2. Struktura umreženog hidrogela: fizička i hemijska umreženja [11].

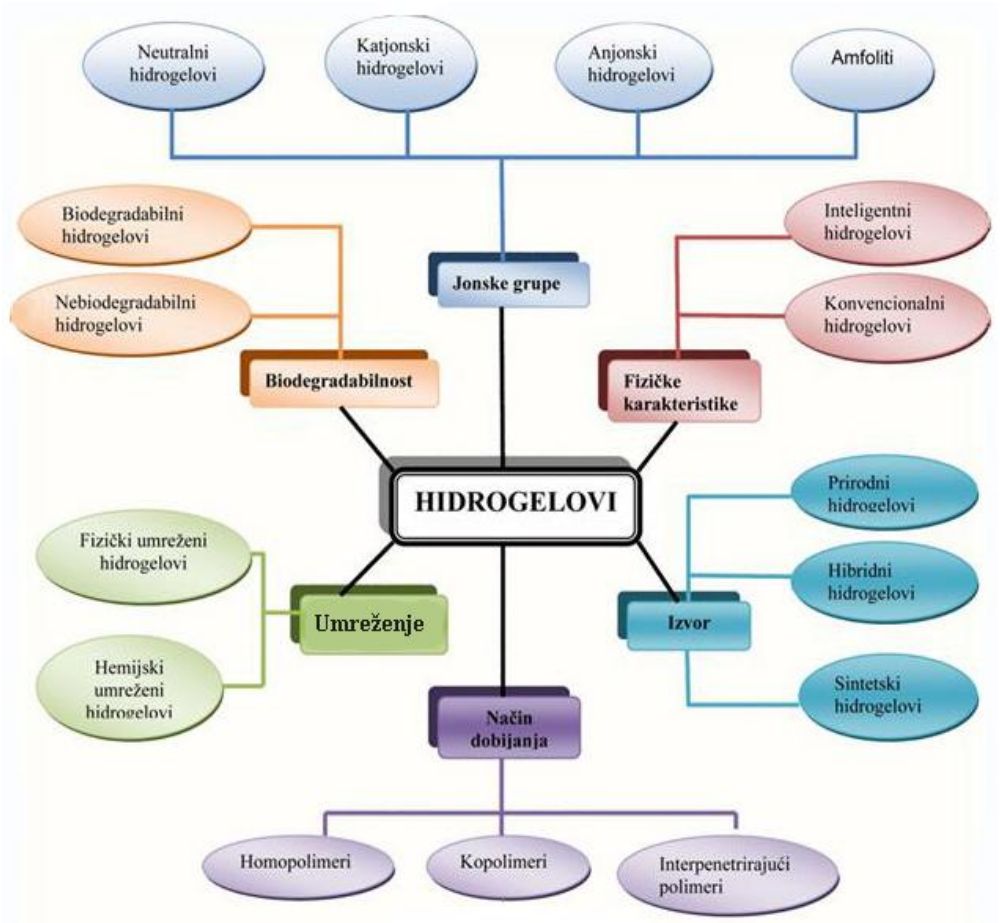
Hidrofilna priroda hidrogelova i njihova meka, elastična konzistencija, nalik živim tkivima, smanjuju mogućnost uspostavljanja nespecifičnih interakcija sa proteinima i ćelijama što čini hidrogelove idealnim kandidatima za brojne biološke primene. Pored toga, polimerna mreža bogata specifičnim funkcionalnim grupama rezultira hidrogelovima osetljivim na dejstvo različitih fizičkih, hemijskih i/ili bioloških stimulansa. Stepen osetljivosti hidrogela na dejstvo određenog stimulansa zavisi od sastava hidrogela, kao i od tipa i stepena umreženja polimernih lanaca. S tim u vezi, adekvatan odabir polaznih monomera, kao i način i stepen umreženja polimernih lanaca su osnovni parametri koji utiču na finalna svojstva sintetisanih hidrogelova. Modifikovanjem navedenih parametara moguće je precizno dizajnirati materijale na bazi hidrogelova sa unapred definisanim svojstvima. Na to ukazuje činjenica da visok stepen umreženja uzrokuje bolja mehanička svojstva hidrogela i smanjuje stepen difuzije molekula kroz hidrogel, redukujući veličinu pora u polimernoj mreži. Veličina, kao i broj pora u polimernoj mreži predstavljaju bitan parametar koji definiše difuziju molekula kroz hidrogel što je od velikog značaja posebno u dizajniranju sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

Hidrogelovi osetljivi na dejstvo spoljnih stimulansa, poznatiji kao „inteligentni“ hidrogelovi, poseduju jedinstvenu sposobnost da prepoznaju dejstvo dominantnog stimulansa i da kao odgovor na njega menjaju svoja fizička ili hemijska svojstva. Upravo ova specifičnost hidrogelova, inicirala je brojna eksperimentalna i teorijska istraživanja hidrogelova osetljivih na promenu pH vrednosti i/ili temperature, dejstvo električnog ili magnetnog polja, promenu jonske jačine, pritiska i drugih faktora.

Posebno su izučavani „inteligentni“ hidrogelovi kao sofisticirani sistemi za otpuštanje aktivnih supstanci koje je neophodno zaštititi od neželjenih uticaja sredine (prisustvo enzima, niske vrednosti pH u želucu i slično) ili kao sistemi kojima je moguće postići otpuštanje aktivne supstance na tačno određenom, ciljanom mestu u organizmu.

2.1.1. Podela hidrogelova

U zavisnosti od načina dobijanja, tipa funkcionalnih grupa prisutnih u polimernoj mreži, porekla, fizičkih i hemijskih svojstava, prirode bubrenja u promenljivim spoljnim uslovima, prirode umreženja ili stepena biodegradacije, hidrogelovi se mogu podeliti na različite načine. Osnovna podela hidrogelova prikazana je na Slici 3 [12].



Slika 3. Podela hidrogelova.

Različiti načini sintetisanja i kombinovanja polaznih monomera omogućavaju razvoj velikog broja homo- i kopolimera različitih svojstava[13-15]. Svojstva

hidrogelova u velikoj meri zavise od tipa funkcionalnih grupa zastupljenih u polimernoj mreži. Na osnovu prirode bočnih grupa u polimernim lancima hidrogelovi se dele na neutralne i jonske, pri čemu jonski mogu biti anjonski, katjonski ili amfoliti. Svojstva jonskih hidrogelova određena su prirodom jonskih grupa zastupljenih u polimernim lancima, pa tako prisustvo karboksilne grupe u polimernoj mreži rezultira hidrofilnijim polimernim materijalom koji kao posledicu disocijacije karboksilnih grupa ima veći kapacitet apsorpcije vode i/ili drugih fizioloških fluida [16,17].

Jedna od takođe važnih podela hidrogelova je podela na osnovu prirode umreženja tj. podela na hemijski i fizički umrežene hidrogelove. Tip umreženja polimernih lanaca je važan parametar koji određuje stabilnost strukture polimerne mreže u nabubrelom stanju. Hemijski umreženi hidrogelovi nazivaju se još i permanentni hidrogelovi, nerastvorni su u većini rastvarača i njihova svojstva se ne mogu menjati nakon sinteze. Hemijski umreženi hidrogelovi se mogu dobiti polimerizacijom monomera sa agensima za umrežavanje, umrežavanjem polimernih segmenata rastvorenih u vodi sa di- i/ili multi-funkcionalnim agensima za umrežavanje ili primenom radijacionog zračenja (UV zračenje, mikrotalasi, gama-zračenje i elektronski snopovi). Kod fizički umreženih hidrogelova strukturna stabilnost je određena reverzibilnim fizičkim domenima koje čine: vodonične veze, van der Valsove sile, prepletaji lanaca, jonske interakcije [18]. Važno svojstvo fizički umreženih hidrogelova je mogućnost slabljenja uspostavljenog fizičkog umreženja ili njihovo potpuno rastvaranje usled promene uslova u okolnom medijumu.

Najatraktivniju grupu hidrogelova čine „inteligentni“ hidrogelovi. Njihovo specifično svojstvo, koje ih izdvaja od ostalih tipova hidrogelova je sposobnost da reaguju na promenu pH vrednosti, temperature, jonske jačine, električnog i/ili magnetnog polja, svetlosti ili na prisustvo različitih molekula i/ili promenu njihove koncentracije u okolnom medijumu [19-23].

2.1.2. Metode sinteze hidrogelova

U dizajniranju hidrogelova sa precizno određenim svojstvima, pored odabira monomera, značajan faktor predstavlja i adekvatan izbor metode sinteze. Hidrogelovi se mogu dobiti radikalnom polimerizacijom ili kopolimerizacijom koja započinje razlaganjem inicijatora na radikale dejstvom toplote, ultra-ljubičaste svetlosti,

visokoenergetskog zračenja (gama-zraka, elektrona i jona), ultrazvuka ili dejstvom enzima [24]. Drugi način dobijanja hidrogelova je reakcijom stupnjevite polimerizacije odnosno međusobnim reagovanjem funkcionalnih grupa.

Hemijski umreženi hidrogelovi mogu nastati:

- umrežavanjem u rastvoru pomoću sistema: *umreživač* (najčešće: etilenglikoldimetakrilat, *N,N'*-metilenbisakrilamid i divinilbenzen), *inicijator* (najčešće se koriste azo-jedinjenja, peroksidi ili redoks inicijatori za polimerizaciju u vodi) i *ubrzivač* (često se koristi *N,N,N',N'*–tetrametiletilen diamin), polimerizacijom preko slobodnih radikala;
- umrežavanjem hemijskim reakcijama komplementarnih funkcionalnih grupa, kao što je:
    - umrežavanje reakcijama adicije,
    - umrežavanje reakcijama kondenzacije,
    - umrežavanje radijacionom energijom,
    - umrežavanje korišćenjem enzima.

Fizički umreženi hidrogelovi se mogu dobiti na neki od sledećih načina:

- umrežavanje jonskim interakcijama,
- umrežavanje hidrofobnim interakcijama,
- umrežavanje stvaranjem stereokompleksa (interakcijama između polimernih lanaca istog hemijskog sastava, ali različite stereohemije),
- umrežavanje multiblok kopolimera ili kalemljenih kopolimera,
- umrežavanje obrazovanjem vodoničnih veza [24,25].

Umrežavanje hidrogelova radijacionim zračenjem podrazumeva upotrebu različitih prirodnih i/ili veštačkih izvora visokoenergetskog zračenja [24]. Najčešće se 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.

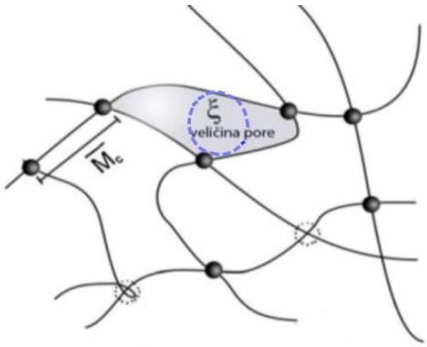
Hidrogelovi se mogu dobiti ozračivanjem monomera u masi i u vodenim rastvorima. Ozračivanje vodenih rastvora monomera se češće izvodi jer je efikasnije - koriste se niže doze radijacije a prinos radikala je veći. U novije vreme se često u vodeni rastvor monomera dodaje mali udeo nekog bifunkcionalnog monomera, da bi se

povećala efikasnost umrežavanja naročito kada se izvodi ozračivanje sa malim brzinama zračenja. Umrežavanjem hidrogelova radijacionim zračenjem izbegava se korišćenje pomoćnih agensa (inicijatora i aktivatora), pri čemu je dobijeni materijal istovremeno i sterilisan. Kontrola procesa umrežavanja je jednostavna tako da se ova metoda sve više koristi pri sintezi hidrogelova, posebno hidrogelova namenjenih za biomedicinsku primenu.

2.1.3. Struktura i svojstva polimerne mreže

Zahvaljujući brojnim specifičnim svojstvima hidrogelova, pre svega sposobnosti „inteligentnog“ ponašanja i fižičkim svojstvima sličnim živim tkivima, hidrogelovi su poslednjih godina predmet opsežnih istraživanja u oblasti izrade sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Dva važna svojstva hidrogelova koja su odlučujuća za njihovu primenu u pomenutim sistemima su: permeabilnost polimerne mreže i ponašanje hidrogelova pri bubrenju. Permeabilnost polimerne mreže i ponašanje pri bubrenju zavise u velikoj meri od hemijskog sastava i odnosa reaktanata koji se koriste pri sintezi hidrogela, ali i od izbora načina i uslova izvođenja sinteze.

Razlike u strukturi i morfologiji polimerne mreže rezultiraju različitim mehanizmima koji kontrolišu otpuštanje aktivne supstance iz hidrogelova. Usled toga, modifikovanjem polimerne strukture i/ili morfologije moguće je dizajnirati željeni profil otpuštanja koji je najadekvatniji za odgovarajuću aktivnu supstancu i njen način primene. Da bi se procenila mogućnost primene hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci važno je poznavati strukturu i svojstva polimerne mreže. Struktura idealizovane polimerne mreže prikazana je na Slici 4.



Slika 4. Struktura idealizovane polimerne mreže; $\overline{M}_c$ je molska masa polimernog lanca između dve susedne tačke umreženja; ξ je veličina pore.

Najvažniji parametri koji definišu strukturu i svojstva hidrogela u nabubrelom stanju su:

- $\varphi_{2,s}$ - zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju - indirektna mera količine fluida koju je hidrogel apsorbovao,
- $\overline{M}_c$ - srednja molska masa polimernog lanca između dve susedne tačke umreženja – mera stepena umreženja,
- ξ - veličina pora polimerne mreže – prostor veličine ekvivalentne sfere između polimernih lanaca kroz koji se odvija difuzija molekula.

Svi navedeni parametri su međusobno zavisni i mogu se izračunati teorijski ili na osnovu eksperimentalno dobijenih podataka o bubrenju [2]. Zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju je mera količine fluida koju gel može da apsorbuje i izračunava se kao recipročna vrednost ravnotežnog stepena bubrenja (q_e):

$$\varphi_{2,s} = \frac{1}{1+q_e} \tag{1}$$

Za izračunavanje molske mase polimernog lanca između dve susedne tačke umreženja za jonski hidrogel sa dve karboksilne grupe koristi se sledeća jednačina [2]:

$$\frac{V_1\chi^2\varphi_{2,s}^2}{4I\overline{V_r^2}}\left[\frac{\left(2K_{a1}K_{a2}+10^{-pH}K_{a1}\right)}{2\left(10^{-pH}\right)^2+10^{-pH}K_{a1}+K_{a1}K_{a2}}\right]^2 = \left[\ln\left(1-\varphi_{2,s}\right)+\varphi_{2,s}+\chi\varphi_{2,s}^2\right]+\left(\frac{V_1\rho}{\overline{M}_c}\right)\varphi_{2,r}^{2/3}\varphi_{2,s}^{1/3} \tag{2}$$

gde su: K_{a1} i K_{a2} prva i druga konstanta disocijacije dikarbonske kiseline u (konkretnom slučaju itakonske kiseline), χ je maseni udeo dikarbonske kiseline i I je jonska jačina medijuma za bubrenje, $\varphi_{2,s}$ je zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju, $\varphi_{2,r}$ je zapreminski udeo polimera u relaksiranom stanju, V_1 je molska zapremina vode, ρ je gustina polimera, $\overline{V}_r$ je srednja molska zapremina polimerne jedinice koja se ponavlja i χ je Florijev (Flory) parametar interakcije polimer-rastvarač.

Parametar interakcije polimer-rastvarač se može izračunati primenom sledeće jednačine [23]:

$$\chi = \frac{\ln\left(1-\varphi_{2,s}\right)+\varphi_{2,s}}{\varphi_{2,s}^2} \tag{3}$$

2.1.3.1. Određivanje veličine pora polimerne mreže

Veličina pora je jedan od bitnih parametara koji utiče na brzinu otpuštanja aktivne supstance iz hidrogela. Veličina pora se može odrediti teorijski ili eksperimentalnim metodama. Dve tehnike za direktno merenje ovog parametra su kvazi-elastično lasersko rasipanje svetlosti i skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM). Neke od indirektnih metoda za izračunavanje veličine pora polimerne mreže su: živina porozimetrija, merenje elastičnosti gume i eksperimenti ravnotežnog bubrenja.

Na osnovu vrednosti gustine umreženja ili srednje molske mase polimernog lanca između dve susedne tačke umreženja ($\overline{M}_c$), veličina pora se može odrediti izračunavanjem dužine polimernog lanca između dve susedne tačke umreženja, preko sledeće jednačine [26]:

$$\zeta = \alpha\left(\overline{r}^2\right)^{1/2} \tag{4}$$

U navedenom izrazu α je stepen izduženja polimernog lanca u bilo kom pravcu, a $(\overline{r}^2)^{1/2}$ kvadratni koren srednjeg kvadrata rastojanja između dve susedne tačke umreženja polimernog lanca. Stepen izduženja polimernog lanca se određuje primenom sledeće jednačine:

$$\alpha = \varphi_{2,s}^{-1/3} \tag{5}$$

Za određivanje kvadratnog korena srednjeg kvadrata rastojanja između dve susedne tačke umreženja polimernih lanaca, koristi se sledeća jednačina:

$$\left(\overline{r_0}^2\right)^{1/2} = l\left(\frac{2C_n\overline{M}_c}{M_r}\right)^{1/2} \tag{6}$$

gde je C_n Florijev karakterističan odnos koji definiše konformaciju polimera i konstantan je za dati sistem polimer-rastvarač, l dužina C-C veze u osnovnom lancu (1,54 $\overset{o}{A}$ za vinilne polimere), M_r je molska masa osnovne strukturne jedinice koja čini polimer [27].

2.1.3.2. Bubrenje hidrogelova

Kinetika bubrenja hidrogelova je određena difuzijom molekula vode (ili nekog drugog fluida) i kapilarnim efektom. Pored toga, veoma važan fenomen u procesu transporta molekula fluida kroz polimernu mrežu je relaksacija polimernih lanaca jer utiče na interakcije polimer-molekuli fluida. Da bi se utvrdila priroda transporta molekula fluida kroz hidrogel, podaci o bubrenju dobijeni u različitim vremenskim intervalima se analiziraju preko Ritger-Pepasove jednačine difuzije (uz uslov $f_f < 0{,}6$):

$$f_f = \frac{m_t}{m_e} = kt^n \tag{7}$$

gde su: f_f – odnos količine fluida (m_t) koju je hidrogel apsorbovao u vremenu t i količine fluida (m_e) koju je hidrogel apsorbovao u ravnotežnom nabubrelom stanju ($t \rightarrow \infty$); k je karakteristična konstanta bubrenja koja se odnosi na strukturu hidrogela; n je difuzioni eksponent ili transportni broj koji pokazuje koji faktor (difuzija molekula fluida i/ili relaksacija polimernih lanaca) kontroliše bubrenje. U Tabeli 1 su prikazani mogući mehanizmi transporta molekula fluida kroz hidrogel u zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta (n).

Tabela 1. Mehanizmi transporta molekula fluida kroz hidrogel u zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta (n).

	Mehanizam transporta	**Difuzioni eksponent *(n)***
1.	Fikova (Fick) difuzija	$n \leq 0{,}5$
2.	Ne-Fikova difuzija	$0{,}5 < n < 1{,}0$
3.	Tip II	$n = 1{,}0$
4.	Super slučaj, Tip III	$n > 1{,}0$

Bubrenje hidrogelova je kontrolisano difuzijom molekula fluida u sličaju kada je vrednost difuzionog eksponenta $n \leq 0{,}5$, što je poznato kao Fikova difuzija. Za vrednosti n=1,0 relaksacija polimernih lanaca je faktor koji kontroliše transport molekula fluida i takav mehanizam transporta se naziva difuzija Tip II [28]. U slučaju kada je vrednost difuzionog eksponenta $0{,}5 < n < 1{,}0$ oba efekta (i relaksacija polimernih lanaca i

difuzija) kontrolišu bubrenje i nijedan od ovih fenomena se ne može zanemariti [29,30]. Takav transport fluida se naziva ne-Fikov transport. U nekim slučajevima može se dobiti vrednost $n > 1,0$ i takav mehanizam transporta molekula fluida se naziva Super slučaj II [31,32].

Odstupanje od Fikovog mehanizma transporta molekula fluida kroz polimernu mrežu može se pripisati promenama polimerne strukture usled sorpcije ili desorpcije molekula. Variranjem sastava hidrogela mogu se dizajnirati različiti mehanizmi transporta molekula fluida kroz polimernu mrežu. Mehanizam transporta molekula kroz polimernu mrežu zavisi i od geometrije uzorka hidrogela koji se ispituje, kao i od stepena umreženja hidrogela [31].

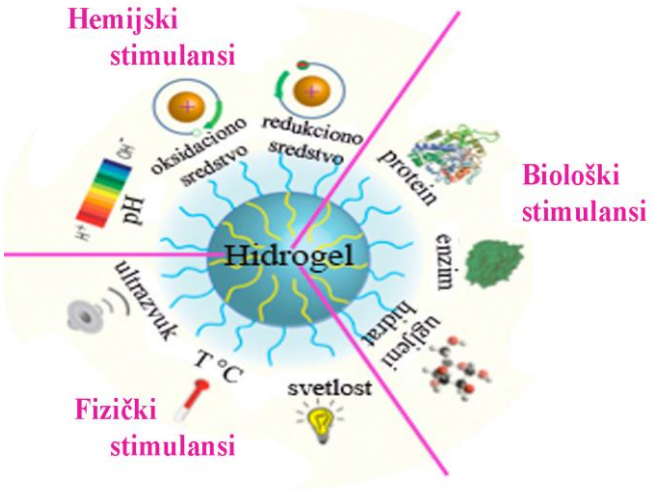
2.1.4. Hidrogelovi osetljivi na dejstvo spoljnih stimulansa

Sve veći razvoj nauke o polimerima rezultirao je pojavom novih polimera sa specifičnim svojstvima. U dizajniranju sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci najatraktiniji su „inteligentni“ hidrogelovi zbog njihove specifičnosti da reaguju na dejstvo spoljnih stimulansa menjajući svoja fizička/hemijska svojstva [34]. Dejstvo spoljnih stimulansa najčešće inicira promene u ponašanju hidrogelova pri bubrenju, promene u strukturi polimerne mreže i permeabilnosti, kao i promene mehaničkih svojstava hidrogelova.

Kao aktivirajući stimulansi „inteligentnih“ hidrogelova mogu se koristiti različiti fizički (temperatura, ultrazvuk, svetlost, električno i/ili magnetno polje, pritisak), hemijski (pH vrednost medijuma, jonska jačina, redukciona ili oksidaciona sredstva) i biološki faktori (enzimi, antitela i drugi biohemijski faktori) [33]. Stimulansima se mogu simulirati uslovi iz okoline i/ili prirodni uslovi različitih fizioloških i patofizioloških stanja u organizmu. Hidrogelovi mogu biti osetljivi na promenu jednog ili više faktora okoline, što zavisi od sastava i strukture hidrogela [33]. Na Slici 5 su prikazani faktori okoline odnosno stimulansi na koje „inteligentni“ hidrogelovi pokazuju određenu osetljivost.

Postoji veliki broj monomera osetljivih na dejstvo određenih stimulansa, ali svaki od njih ima sposobnost da u obliku homopolimera pokazuje izraženiju osetljivost na određeni stimulans ili u obliku kopolimera osetljivost na više različitih stimulansa istovremeno. Raznovrsnost dostupnih monomera i metoda nihovog kombinovanja, kao i

mogućnost dizajniranja stepena osetljivosti na željeni način, omogućavaju sve veći razvoj hidogelova idealnih svojstava.



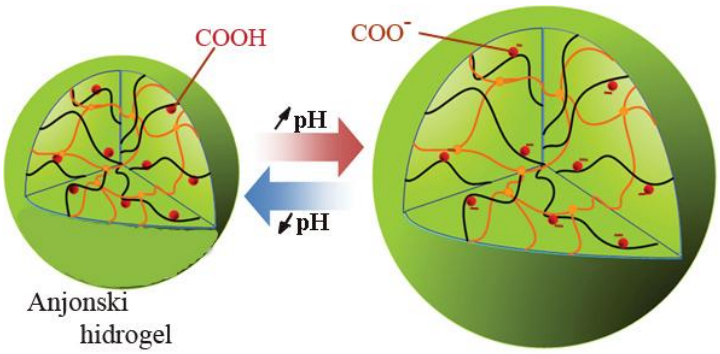
Slika 5. Stimulansi koji mogu da utiču na promene ponašanja hidrogelova.

Sposobnost „inteligentnih“ hidrogelova da reaguju na tačno određeni stimulans u uskom/željenom opsegu, čini ove materijale izuzetno atraktivnim za izradu preciznih i „programiranih“ sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. S obzirom da su pH i temperatura najčešći parametri čije se vrednosti razlikuju u različitim segmentima i stanjima organizma, pH- i temperaturno osetljivi hidrogelovi su nezamenjivi materijali za izradu pomenutih sistema.

2.1.4.1. pH-osetljivi hidrogelovi

Osetljivost hidrogelova na promenu pH vrednosti okolnog medijuma potiče od prisustva jonskih grupa u polimernoj mreži. U medijumu određene pH vrednosti i jonske jačine dolazi do jonizacije grupa prisutnih u polimernoj strukturi što rezultira širenjem polimernih lanaca, odnosno bubrenjem polimerne mreže [35].

Stepen bubrenja pH-osetljivih hidrogelova, odnosno stepen jonizacije kiselih ili baznih grupa u polimernoj mreži, se drastično menja na specifičnim vrednostima pH medijuma koje su poznate kao pK_a i pK_b vrednosti odgovarajućih jonskih grupa. Usled elektrostatičkog odbijanja između istoimenih naelektrisanja nastalih jonizacijom grupa u polimernoj strukturi, dolazi do širenja polimerne mreže i značajnije penetracije molekula vode/fizioloških fluida u hidrogel, odnosno do bubrenja hidrogela. Primer ponašanja pH-osetljivog anjonskog hidrogela prikazan je na Slici 6.



Slika 6. Ponašanje anjonskog, pH- osetljivog hidrogela pri promeni pH vrednosti.

U zavisnosti od vrste jonskih grupa prisutnih u polimernoj mreži razlikuju se anjonski i katjonski hidrogelovi. Anjonski hidrogelovi sadrže kisele jonske grupe kao što je karboksilna, sulfonska ili neka druga anjonska grupa [36,37]. Do deprotonovanja anjonskih grupa dolazi kada je pH vrednost medijuma veća od pK_a vrednosti anjonskih grupa prisutnih u polimernoj mreži. U tom slučaju, usled elektrostatičkog odbijanja između nastalih istoimenih naelektrisanja povećava se stepen bubrenja hidrogela. Za razliku od anjonskih, katjonski hidrogelovi sadrže bazne grupe (kao što je amino grupa), koje jonizuju u medijumu čija je pH vrednost niža od pK_b vrednosti odgovarajuće katjonske grupe [38]. Usled toga, stepen bubrenja katjonskih hidrogelova je veći u kiseloj sredini [39].

Bubrenje jonskih hidrogelova kontroliše nekoliko faktora. Prvu grupu faktora čine faktori koji se odnose na svojstva polimera kao što su: stepen jonizacije jonskih grupa u polimernom lancu i/ili bočnim lancima, koncentracija, kao i pK_a/pK_b vrednosti jonskih grupa prisutnih u polimernoj mreži, gustina umreženja i hidrofilnost/hidrofobnost hidrogela. Drugu grupu faktora čine faktori koji se odnose na medijum u kome hidrogel bubri i to su najčešće: pH vrednost, jonska jačina i temperatura medijuma.

Hidrogelovi osetljivi na promenu pH vrednosti okolnog medijuma imaju veoma široku primenu posebno u medicini i farmaciji. Najčešće se koriste u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Prednost ovakve formulacije u odnosu na konvencionalne dozne forme ogleda se u kontrolisanom održavanju efikasne koncentracije aktivne supstance duži vemenski period i na željenom mestu

delovanja/apsorbovanja. Aktivna supstanca je zaštićena u polimernoj mreži hidrogela sve dok se ne promene uslovi okolne sredine i ne iniciraju njeno otpuštanje.

Promena pH vrednosti duž gastrointestinalnog trakta predstavlja dovoljno jaku pogonsku silu za bubrenje/kontrahovanje pH- osetljivih hidrogelova, što ih čini veoma pogodnim materijalima za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, posebno za oralnu primenu. Anjonski hidrogelovi se obično koriste za izradu formulacija koje se primenjuju oralno kada je potrebno obezbediti otpuštanje aktivne supstance u donjem delu gastrointestinalnog trakta (pH oko 8), gde je pH vrednost veća nego u želucu (pH 1-3). Katjonski hidrogelovi se koriste u sistemima za kontrolisano otpuštanje u slučajevima kada je poželjno da se aktivna supstanca apsorbuje ili ispolji svoje delovanje u želucu.

Ograničavajući faktor u primeni pH-osetljivih hidrogelova može da bude njihova nebiodegradabilnost što podrazumeva da se nakon upotrebe moraju ukloniti iz organizma. To ne predstavlja problem kod oralne aplikacije, ali je ozbiljan ograničavajući faktor kod aplikacije implanta pa su istraživanja u ovoj oblasti sve više usmerena na razvoj biodegradabilnih pH-osetljivih hidrogelova na bazi polipeptida, proteina i polisaharida. pH-osetljivi hidrogelovi se pored značajne primene za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci mogu koristiti i za izradu kontaktnih sočiva, membrana za biosenzore, obloga za veštačko srce, materijala za veštačku kožu i slično [2,13].

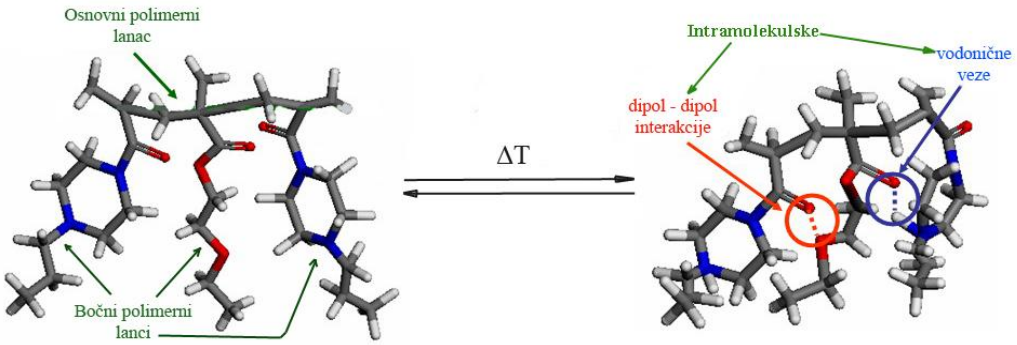
2.1.4.2. Temperaturno osetljivi hidrogelovi

Temperaturno osetljiivi hidrogelovi imaju sposobnost da reaguju na promenu temperature okolnog medijuma pa su kao takvi 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, injektibilne matrice, biosensori, „inteligentni“ nosači ćelijskih kultura [40].

Zajedničko obeležje svih temperaturno osetljivih hidrogelova je prisustvo hidrofobnih (metil, etil i propil grupe) i hidrofilnih (karboksilna, hidroksilna i sl.) grupa 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 dehidratacije sistema [41,42]. U tom slučaju iz hidrogela se oslobađaju molekuli vode/fizioloških fluida što rezultira kontrahovanjem polimerne mreže i smanjenjem vrednosti stepena bubrenja hidrogela. Uticaj promene temperature na temperaturno osetljiv hidrogel je prikazan na Slici 7.



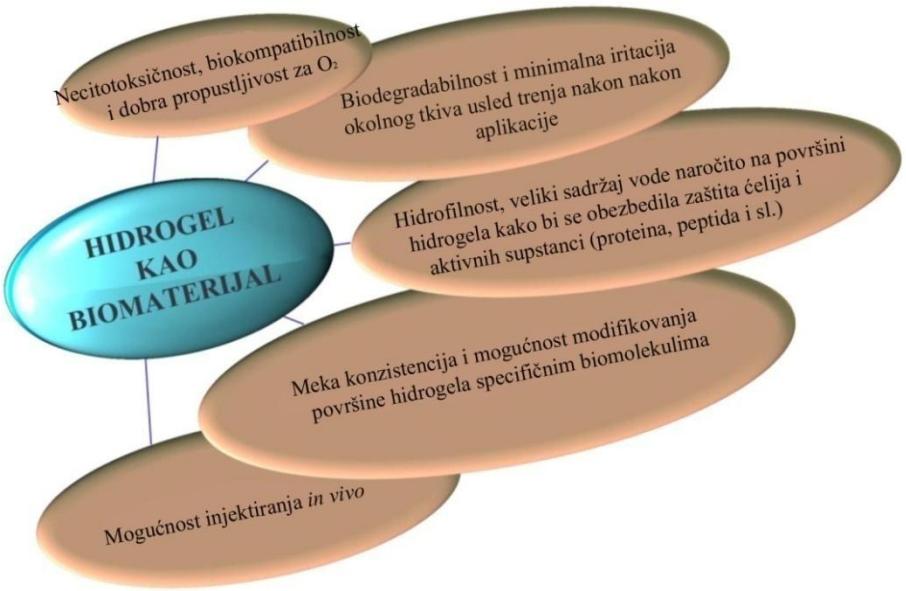
Slika 7. Uticaj promene temperatute na temperaturno osetljiv hidrogel.

Najviše ispitivani temperaturno osetljivi hidrogelovi su: metilceluloza, hidroksipropil metilceluloza, hitozan, N-izopropilakrilamid i drugi N-akrilamid polimeri, poli(vinil metil etar), poli(N-vinilizobutiramid) i drugi [43-53]. Veoma je važno istaći da 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 polimerom niže VPTT vrednosti [42]. 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.

2.1.5. Primena hidrogelova

Zahvaljujući brojnim specifičnim svojstvima, hidrogelovi su predmet brojnih naučnih istraživanja i pronalaze sve veću primenu posebno u oblasti biomedicinskih nauka, uključujući i regenerativnu medicinu, dijagnostiku, inkapsulaciju ćelija, inženjerstvo tkiva, separaciju biomolekula ili ćelija i td [2,25,54]. Na Slici 8 su prikazana osnovna svojstva hidrogelova koja su od presudnog značaja za njihovu upotrebu u vidu biomaterijala.



Slika 8. Osnovna svojstva hidrogelova bitna za njihovu upotrebu u vidu biomaterijala.

Dostupnost velikog broja različitih monomera omogućava izradu hidrogelova čija se hemijska i fizička svojstva mogu varirati u veoma širokom opsegu. Takođe, moguće je dizajnirati hidrogelove različitih dimenzija i geometrija kao što su: diskovi, tanke ploče, membrane, mikročestice, nenočestice, premazi, gel-sol materijali i filmovi. Zahvaljujući mogućnosti preciznog dizajniranja hidrogelova željenih svojstava i jednostavnoj manipulaciji, spektar njihove primene je veoma raznolik i širok.

Nezamenljivi materijali za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci su pH- i temperaturno osetljivi hidrogelovi. Različite pH vrednosti duž

gastrointestinalnog trakta čine pH-osetljive hidrogelove idealnim sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci za oralnu primenu. Detaljniji opis mogućnosti primene pH-osetljivih hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci prikazan je u poglavlju 2.2.6.1 ovog rada. Jedan od ograničavajućih faktora primene većine sintetskih i polusintetskih hidrogelova je njihova nebiodegradabilnost. U slučaju degradabilnih hidrogelova se često javlja problem toksičnosti nastalih produkata degradacije. Ovaj nedostatak doprinosi sve obimnijem istraživanju i razvoju biokompatibilnih i biodegradabilnih polimera [55-58].

Pored višedecenijskog velikog interesovanja za hidrogelove i njihove konvencionalne primene u različitim oblastima, hidrogelovi su i dalje nedovoljno istraženi, obećavajući materijali budućnosti posebno za medicinske i farmaceutske primene. Izrada matrica/nosača u inženjerstvu tkiva, veštačkih organa, materijala za oblaganje i lečenje rana, imobilizaciju enzima i ćelija, kontrolisano otpuštanje različitih aktivnih molekula, predstavljaju samo neke od primarnih oblasti potencijalne, efikasne primene hidrogelova.

2.2. Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Idealna farmakoterapija podrazumeva otpuštanje aktivne supstance na mesto njenog apsorbovanja ili delovanja, u određeno vreme i u određenoj koncentraciji koja se održava u terapijskom opsegu duži vremenski period. Međutim, aktivnost aktivne supstance je vrlo često limitirana raznim faktorima uključujući: degradaciju aktivne supstance, interakcije aktivne supstance sa drugim ćelijama i komponentama bioloških sistema, kao i smanjen kapacitet penetracije kroz tkiva usled hemijske prirode aktivne supstance. U cilju povećanja terapijske efikasnost brojna naučna istraživanja su usmerena upravo na razvoj sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koji će obezbediti prevazilaženje nedostataka konvencionalnih doznih formi.

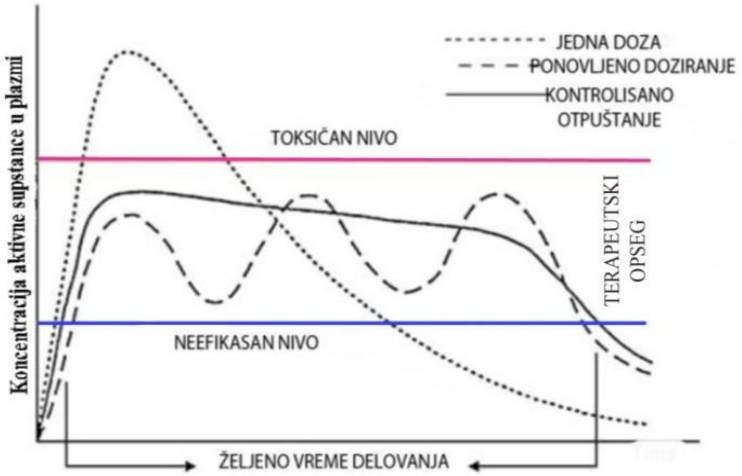
2.2.1. Konvencionalna farmakoterapija

Farmakoterapija datira mnogo vekova unazad, o čemu svedoče spisi grčkog lekara Hipokrata (5. vek p.n.e.) o gorkom prahu ekstrahovanom iz kore vrbe koji olakšava bolove i umanjuje groznicu. Od perioda otkrića aspirina (1828. godina) lekoviti preparati su se najčešće primenjivali oralno u obliku čvrstih pilula, praškova ili

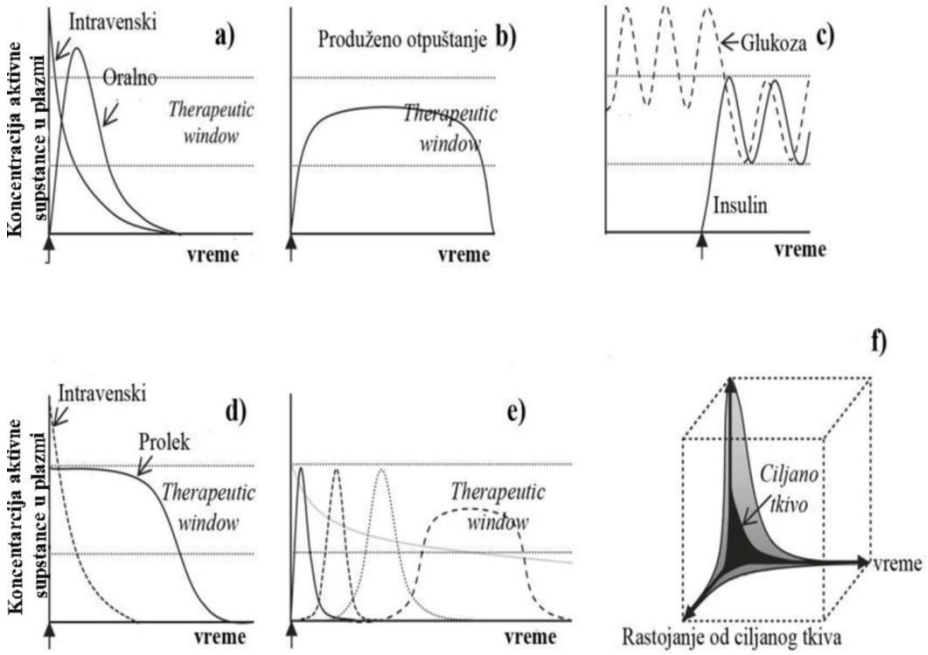
tečnosti ili su se primenjivali intravenski. Primena lekova oralnim ili intravenskim putem podrazumeva da se terapijska doza aktivne supstance u plazmi održava ponovnim doziranjem leka nakon određenog vremenskog perioda. Uprkos efikasnosti oralno ili intravenski primenjene farmakoterapije pojava smenjivanja pikova toksične i neefikasne koncentracije aktivne supstance u plazmi tokom terapije je neizbežna. Nemogućnost održavanja željene, terapijski efikasne i netoksične koncentracije aktivne supstance u plazmi tokom dužeg vremenskog perioda predstavlja osnovno ograničenje konvencionalnih farmakoterapijskih sistema i postaje predmet brojnih istraživanja u oblasti razvoja efikasnih sistema koji će omogućiti prevazilaženje navedenih nedostataka.

2.2.2. Tipovi sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Osnovni cilj primene sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci je održavanje nivoa koncentracije aktivne supstance u plazmi u oblasti između toksične i neefikasne koncentracije (zona poznatija kao „therapeutic window“) tokom dužeg vremenskog perioda (Slika 9). Primenom pomenutih sistema smanjuje se mogućnost pojave pikova toksičnih i neefikasnih koncentracija aktivne supstance u plazmi i redukuje broj potrebnih doza za postizanje terapijskog cilja, što rezultira efikasnijom farmakoterapijom sa smanjenom mogućnošću pojave neželjenih efekata.



Slika 9. Nivo koncentracije aktivne supstance u plazmi nakon primene: konvencionalne dozne forme: jedna doza ...., ponovljene doze - - - -, sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci ___ [59,60].



Slika 10. Različiti tipovi sistema za kontrolisano otpuštanje: a) otpuštanje aktivne supstance nakon oralne i intravenske primene, b) sistem za produženo otpuštanje aktivne supstance, c) pulsirajuće otpuštanje, d) polimer-lek (pro-lek) system, e) sekvencijalno otpuštanje više aktivnih supstanci i f) ciljano otpuštanje aktivne supstance [61].

Kod konvencionalnih formulacija, koncentracija aktivne supstance u plazmi je direktno proporcionalna primenjenoj dozi. Na Slici 10 a) su prikazani profili koncentracije aktivne supstance u plazmi u funkciji od vremena nakon oralne i intravenske primene. Ovakvim formulacijama je teško održavati terapijsku dozu aktivne supstance u plazmi duži vremenski period te je neophodno ponovno doziranje. Pored toga, pojava pikova visoke koncentracije aktivne supstance (iznad nivoa toksične koncentracije) u sistemskoj cirkulaciji dovodi do pojave ozbiljnih neželjenih efekata.

U cilju prevazilaženja pomenutih nedostataka konvencionalnih formulacija lekova, interesovanje za razvoj sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci je u ekspanziji poslednjih godina. Primarno svojstvo sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje je precizno i kontrolisano otpuštanje aktivne supstance u određeno vreme, u određenoj koncentraciji i na određeno mesto delovanja/apsorbovanja. Najjednostavniji primer sistema za kontrolisano otpuštanje je sistem za produženo otpuštanje aktivne supstance, koji omogućava održavanje

željene/terapijske koncentracije aktivne supstance u plazmi duži vremenski period (Slika 10 b)). U farmakoterapiji biološkog disbalansa, od posebnog je značaja da aktivna supstanca bude otpuštena samo kada je to potrebno (Slika 10 c)), te je uloga sistema za kontrolisano otpuštanje u konkretnom slučaju od posebnog značaja. Primer tome je dinamika otpuštanja insulina iz polimerne matrice koja pruža mogućnost otpuštanja insulina isključivo kao odgovor na povećanu koncentraciju glukoze u plazmi. Takva, povratna kontrola otpuštanja aktivne supstance može se postići primenom sistema za kontrolisano otpuštanje izrađenih na bazi „inteligentnih“ hidrogelova [61].

Produženo otpuštanje aktivne supstance se može postići i inkapsulacijom aktivne supstance u nano- ili mikro- čestice ili upotrebom konjugovanih sistema tipa polimer-aktivna supstanca (Slika 10 d)). U slučaju sistema polimer-aktivna supstanca, otpuštanje se postiže kontinualnim raskidanjem veze uspostavljene izmedju aktivne supstance i polimera ili raskidanjem veze u trenutku kada sitem polimer-aktivna supstanca dospe na mesto delovanja/apsorbovanja aktivne supstance. Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koji su dizajnirani tako da otpuštaju aktivnu supstancu u određeno vreme, posebno su značajni za otpuštanje više različitih aktivnih supstanci. Ovakav sistem sadrži nekoliko aktivnih supstanci koje otpušta odgovarajućim redosledom, kada je to potrebno (Slika 10 e)) [61].

Pored sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koji su dizajnirani tako da otpuštaju aktivnu supstancu u određenom vremenskom periodu, od velikog su značaja i sistemi kojima se postiže otpuštanje aktivne supstance na određenom/ciljanom mestu u organizmu (Slika 10 f)). Sistemi za ciljano otpuštanje aktivnih supstanci su multifunkcionalni sistemi, prilagođeni različitim zahtevima specifičnih ciljanih tkiva. Otpuštanje aktivne supstance na konkretno mesto u organizmu je od velike važnosti jer se na taj način smanjuju mogući neželjeni efekti aktivne supstance na ostala tkiva i organe koji nisu cilj terapije. Ciljano otpuštanje aktivne supstance je limitirano mogućnošću povećane lokalne koncentracije aktivne supstance duži vremenski period, što u nekim slučajevima može imati neželjene efekte.

Inovacije u oblasti sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci rezultirale su mogućnošću dizajniranja kompleksnih, multifunkcionalnih, efikasnih sistema za otpuštanje kojima se postiže veoma precizna kontrola doziranja aktivne supstance. Prilikom dizajniranja pomenutih sistema od presudnog je značaja uspostaviti

vezu između svojstava aktivne supstance i željenog mesta njenog delovanja/apsorbovanja, bez znakova moguće degradacije aktivne supstance. Osnovni cilj dizajniranja sistema za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance je izrada sofisticiranog sistema koji pruža mogućnost ravnomernog i preciznog otpuštanja aktivne supstance tokom dužeg vremenskog perioda, sa smanjenom mogućnošću pojave neželjenih efekata i potencijalne predoziranosti i/ili pojave neefikasne koncentracije aktivne supstance u plazmi. Pored navedenih svojstava, poželjno je da opisani sistem ima maksimalnu efikasnost za specifične bolesti, poboljšava komplijansu kod pacijenata i da je povoljan i sa ekonomskog stanovišta.

2.2.3. Prednosti i nedostaci sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

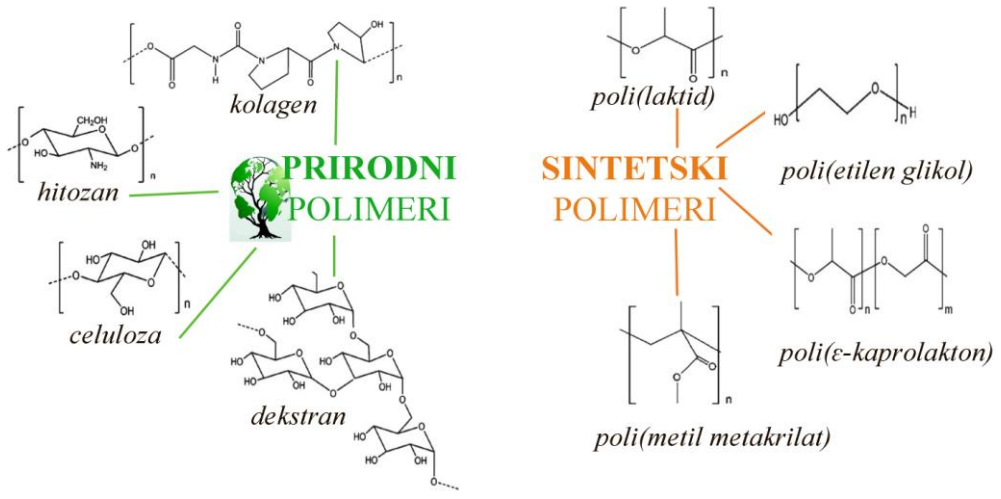
Prednosti sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci potiču prvenstveno od mogućnosti preciznog dizajniranja sistema sa željenim svojstvima što rezultira efikasnijom, kontrolisanom farmakoterapijom, prevencijom ili redukovanjem neželjenih efekata aktivne supstance i poboljšanjem komplijanse kod pacijenata. Pored brojnih prednosti, navedene sisteme karakterišu i neki nedostaci kao što je prilično visoka cena finalnog proizvoda u odnosu na konvencionalne dozne forme. Glavne prednosti i nedostaci polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci su prikazani na Slici 11.

Slika 11. Prednosti i nedostaci polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

2.2.4. Polimeri u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Napredak nauke o polimerima direktno je uticao i na razvoj savremenih polimernih sistema za kontrolisano otpuštanja aktivnih supstanci. Polimerno inženjerstvo ima ključnu ulogu u dobijanju funkcionalnih monomera koji se mogu kombinovati na različite načine i različitim metodama sinteze u cilju dobijanja efikasnih polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. U početku, polimeri su korišćeni u farmaciji kao ekscipijensi za solubilizaciju i stabilizaciju aktivnih supstanci ili kao sredstva za poboljšanje mehaničkih svojstava sistema za produženo otpuštanje aktivnih supstanci. Primeri nekih polimera koji se koriste kao ekscipijensi u farmaceutskim formulacijama su poli(uretani) zbog svoje elastičnosti, poli(siloksani) ili silikoni zbog izolacionih sposobnosti, poli(metil metakrilati) zbog mehaničkih svojstava i transparentnosti, polivinil alkohol zbog hidrofilnosti, poli(vinil pirolidon) kao stabilizator suspenzija [62]. Međutim, prvobitna uloga i primena polimera u farmaciji se konstantno menja i polimeri postaju preduslov za razvoj efikasnih, sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Razvoj novih metoda sinteze kao i dostupnost novih, multifunkcionalnih monomera rezultirali su izradom različitih vrsta sintetskih polimera sa precizno definisanom strukturom i svojstvima. Takođe, pristup razvoju polimera sa stanovišta drugih naučno istraživačkih oblasti, poput biohemije i nanotehnologije učinio je polimere i polimerne sisteme za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci „inteligentnijim“, efikasnijim i nezamenljivim sistemima u različitim oblastima primene.

Za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci mogu se koristiti prirodni i sintetski polimeri, koji mogu biti biodegradabilni ili nebiodegradabilni (Slika 12) [2,63,64]. Polimerni sistemi za kontrolisano otpuštanje se mogu koristiti kao formulacije različitih tipova molekula i ćelija. Polimerni materijali namenjeni za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci poseduju izvesne specifičnosti (velika sličnost živim tkivima, bubrenje, „inteligentno“ ponašanje) koje ih čine pogodnim za *in vivo* primenu. Najvežnija svojstva polimera za njihovu *in vivo* primenu su necitotoksičnost, biokompatibilnost i biodegradabilnost [55].



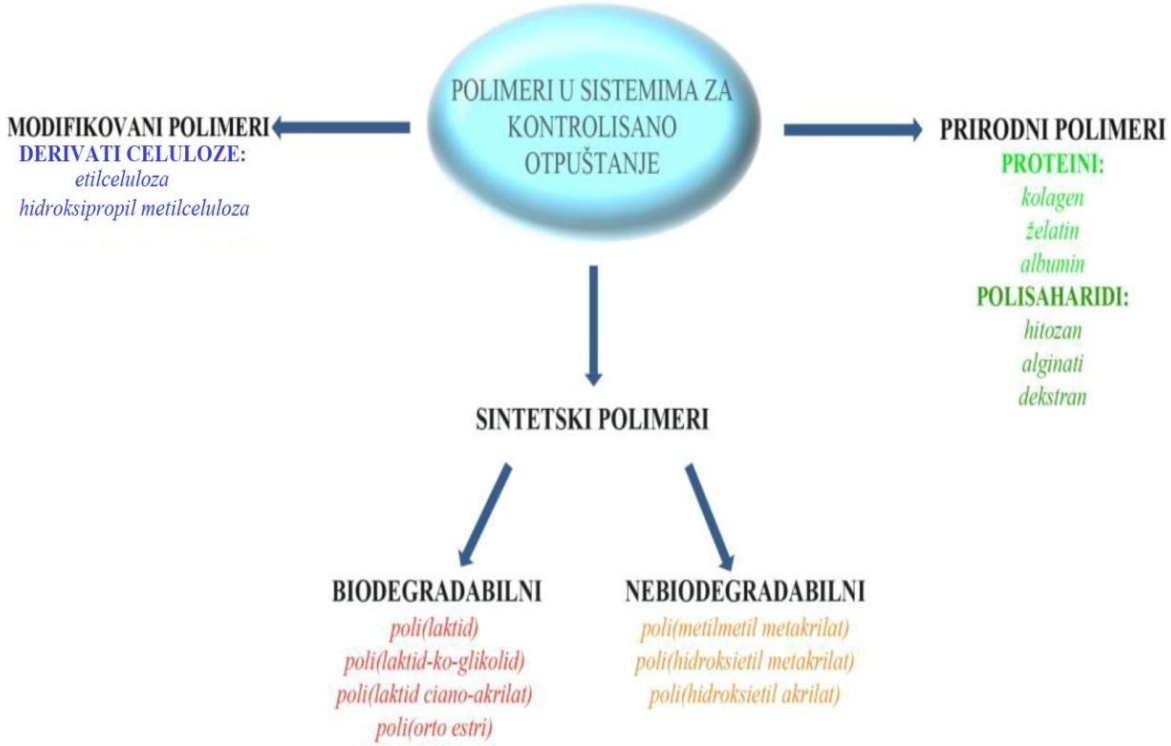
Slika 12. Prirodni i sintetski polimeri namenjeni za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

Biodegradabilni polimeri su naročito atraktivni za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje koji se primenjuju kao implanti, jer nakon aplikacije takvih sistema nije potrebno njihovo odstranjivanje iz organizma ili dodatno manipulisanje. Degradacioni proizvodi biodegradabilnih polimera se metabolišu u organizmu i lako eliminišu metaboličkim putevima, bez pojave neželjenih efekata. Posebno atraktivni materijali za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje su prirodni biodegradabilni polimeri koji pokazuju visok stepen biokompatibilnosti. Upotreba nekih od njih može biti limitirana usled povećanog rizika od nastanka virusnih infekcija i mogućeg antigenog dejstva.

Sintetski polimeri mogu biti različitog sastava i mogu posedovati različite karakteristike. Njihova pojava inicirala je mogućnost izrade novih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koji poseduju specifična svojstva (hemijska, mehanička, biološka), neophodna za određene primene. Odlična produktivnost savremenih tehnologija dobijanja sintetskih polimera obezbeđuje mogućnost izrade sistema za kontrolisano otpuštanje sa uniformnim svojstvima, na jednostavan i ekonomičan način.

Pored primene prirodnih i sintetskih polimera, značajna je i strategija dizajniranja sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koja podrazumeva kombinovanje prirodnih i sintetskih polimera. Finalni cilj je objediniti u jednom materijalu najbolja svojstva prirodnih (biodegradabilnost i biokompatibilnost) i sintetskih polimera (mehanička svojstva). Na Slici 13 su prikazani neki od najčešće

korišćenih prirodnih, sintetskih, biodegradabilnih i nebiodegradabilnih polimera za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.



Slika 13. Prirodni, sintetski, biodegradabilni, nebiodegradabilni polimeri koji se primenjuju u izradi sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

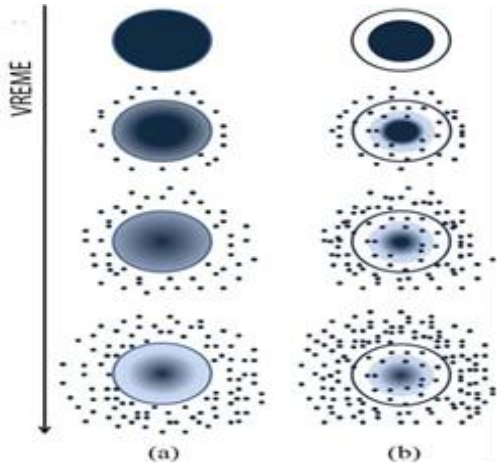
2.2.5. Mehanizmi otpuštanja aktivne supstance iz polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje

Polimerni sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci mogu se na osnovu mehanizma otpuštanja aktivne supstance primarno svrstati u četiri kategorije:

- sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom (matrice i membranski/rezervoar sistemi),
- sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano degradacijom polimernog sistema (biodegradabilni sistemi),
- sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano bubrenjem,
- sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano dejstvom određenih stimulansa (pH- i temperaturno osetljivi sistemi, sistemi osetljivi na dejstvo električnog i/ili magnetnog polja, ultrazvuk i sl.) [65].

2.2.5.1. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom

Najzastupljeniji sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom su matrice i membranski/rezervoar sistemi (Slika 14 a) i b)).



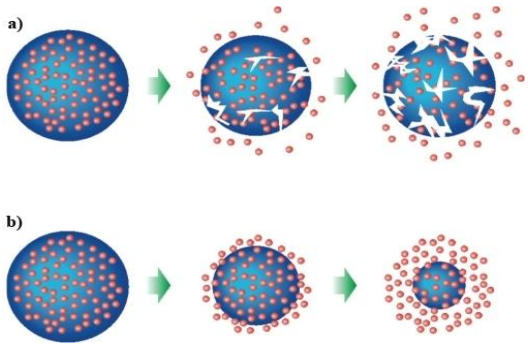
Slika 14. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom: a) polimerna matrica i b) membranski/rezervoar sistem.

Sistemi tipa polimernih matrica su izrađeni u vidu polimernog nosača u kome je aktivna supstanca homogeno raspoređena (dispergovana ili rastvorena) [66]. Rezervoar sistem je sistem u kome je jezgro sačinjeno od aktivne supstance obloženo polimernom membranom koja predstavlja inertnu difuzionu barijeru. Kod ovog sistema veoma su važna mehanička svojstva polimerne membrane jer tokom otpuštanja aktivne supstance mogu nastati šupljine u polimernoj membrani što rezultira neželjenim, neujednačenim otpuštanjem.

Upoređivanjem kinetike otpuštanja aktivne supstance iz polimernih sistema različitih geometrija ustanovljeno je da se profil otpuštanja aktivne supstance može dizajnirati adekvatnim izborom geometrije sistema. Takođe, količina aktivne supstance koja se otpušta može biti kontrolisana debljinom polimerne membrane kod membranskih sistema, koncentracionim gradijentom aktivne supstance, kao i hemijskom strukturom polimera.

2.2.5.2. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano degradacijom sistema

Otpuštanje aktivne supstance degradacijom (erozijom) polimera u kome je aktivna supstanca rastvorena ili dispergovana postiže se mehanizmom koji je zasnovan na svojstvu polimera da degradira u organizmu pod uticajem bioloških uslova i procesa [66]. Biodegradabilni polimeri koji se koriste za izradu degradabilnih sistema za otpuštanje aktivnih supstanci degradiraju u organizmu usled dejstva enzima i/ili hidrolizom polimernih lanaca. Polimerni materijal degradira u biološki prihvatljive komponente, manjih molskih masa, koje se prirodnim putem mogu eliminisati iz organizma. Primer takvih polimera su polilaktidi i poliglikolidi i njihovi kopolimeri koji mogu da degradiraju do mlečne i glikolne kiseline koje zatim ulaze u Krebsov ciklus putem koga se razgrađuju do ugljen dioksida i vode i na taj način se eliminišu iz organizma. Degradacijom polimernog sistema aktivna supstanca dispergovana u polimernom nosaču može se otpuštati kontinualno iz čitave zapremine polimera ili samo sa njegove površine (Slika 15 a) i b)). Način otpuštanja aktivne supstance zavisi od sastava polimera, tipa veza uspostavljenih u polimernoj mreži, stepena i prirode umreženja polimernih lanaca, kao i od geometrije polimernog nosača (sferni, cilindrični itd.) [67].



Slika 15. Otpuštanje aktivne supstance a) erozijom u masi i b) površinskom erozijom polimernog sistema [69].

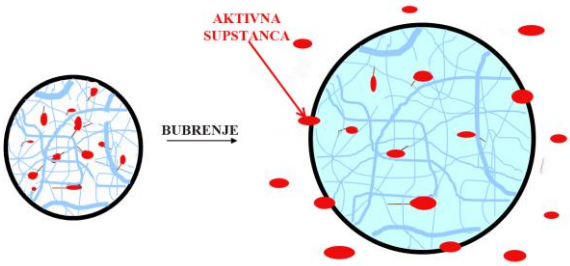
Pri degradaciji polimerne matrice, čitava matrica je izložena hemijskim ili enzimskim reakcijama pa se aktivna supstanca kontinualno otpušta na relativno uniforman način, duži vremenski period. Degradacija polimera odvija se do određene kritične mase polimera pri kojoj on postaje rastvorljiv u vodi i lako se eliminiše iz

organizma metaboličkim putevima. U slučaju otpuštanja aktivne supstance površinskom erozijom polimera, profil otpuštanja zavisi od dostupne površine otpuštanja. Obično se površinska degradacija polimera postiže hidrolizom površine polimera pri čemu dolazi do sporog raspadanja polimernog nosača i kontinualnog otpuštanja aktivne supstance. Erozivni materijali uglavnom u svojoj strukturi sadrže hidrofobne osnovne polimerne lanace obogaćene hidrofilnim bočnim grupama i najčešće degradiraju sloj po sloj. Polimeri koji se najčešće koriste za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci mehanizmom površinske erozije su poliestri [68].

Kod sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci kod kojih je otpuštanje kontrolisano degradacijom, narušavanje polimerne strukture i kidanje polimernih lanaca u polimernom sistemu su uzrok otpuštanja aktivne supstance. Kinetika otpuštanja aktivne supstance se može podešavati kontrolom degradacije polimernog sistema variranjem sastava polimernog sistema, stepena umreženja i odabirom adekvatne geometrije sistema.

2.2.5.3. Sistemi kod kojih je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano bubrenjem

Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci izrađeni od hidrofilnih polimernih materijala u kojima je otpuštanje aktivne supstance kontrolisano difuzijom molekula rastvarača u polimernu matricu nazivaju se sistemi kontrolisani bubrenjem (Slika 16).



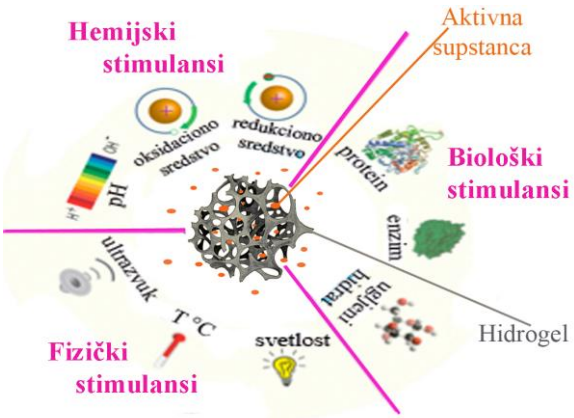
Slika 16. Sistemi za otpuštanje aktivnih supstanci kod kojih je otpuštanje kontrolisano bubrenjem.

U ovim sistemima aktivna supstanca je rastvorena ili dispergovana u hidrofilnom polimernom materijalu koji poseduje sposobnost bubrenja. Pri kontaktu sa fiziološkim fluidima molekuli rastvarača difunduju u polimerni sistem i uzrokuju širenje polimerne mreže odnosno njeno bubrenje. Tokom bubrenja polimernog sistema

molekuli aktivne supstance difunduju kroz polimernu mrežu. Brzina difuzije aktivne supstance uslovljena je količinom apsorbovanog fluida, poroznošću polimerne strukture, kao i relaksacijom polimernih lanaca [70].

2.2.5.4. Sistemi kod kojih je otpuštanje kontrolisano dejstvom stimulansa

Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci kod kojih je otpuštanje kontrolisano dejstvom stimulansa prisutnih u okolinoj sredini obuhvataju pH- i temperaturno osetljive sisteme, kao i sisteme osetljive na dejstvo magnetnog i/ili električnog polja, ultrazvuka i slično (Slika 17).



Slika 17. Otpuštanje aktivne supstance iz polimernog sistema osetljivog na dejstvo spoljnih stimulansa.

Sistemi iz ove grupe su izrađeni na bazi „inteligentnih“ polimernih materijala koji imaju sposobnost da prepoznaju dejstvo određenog stimulansa ili više njih i da kao odgovor menjaju svoja fizička/hemijska svojstva, što rezultira otpuštanjem aktivne supstance. Svojstva i primena pH- i temperaturno osetljivih hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci su detaljnije opisani u poglavljima 2.2.6.1. i 2.2.6.2. ovog rada.

2.2.6. Primena hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

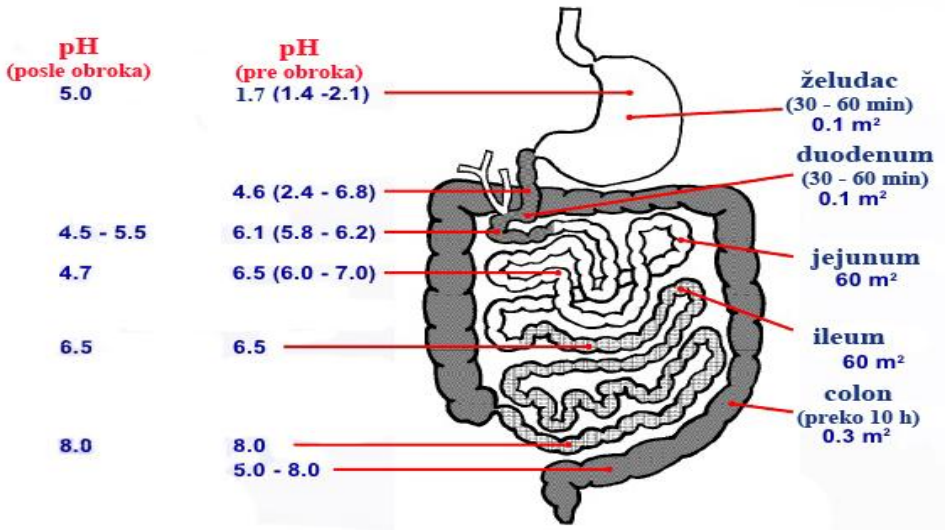
U cilju poboljšanja efikasnosti farmakoterapije razvijene su brojne strategije dizajniranja sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci [2]. Posebno atraktivna strategija razvoja sofisticiranih sistema odnosi se na primenu hidrogelova kao

potencijalnih materijala pogodnih naročito za izradu sistema za kontrolisano/produženo otpuštanje, bioadhezivnih sistema i sistema za ciljano otpuštanje aktivnih supstanci.

2.2.6.1. pH-osetljivi hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

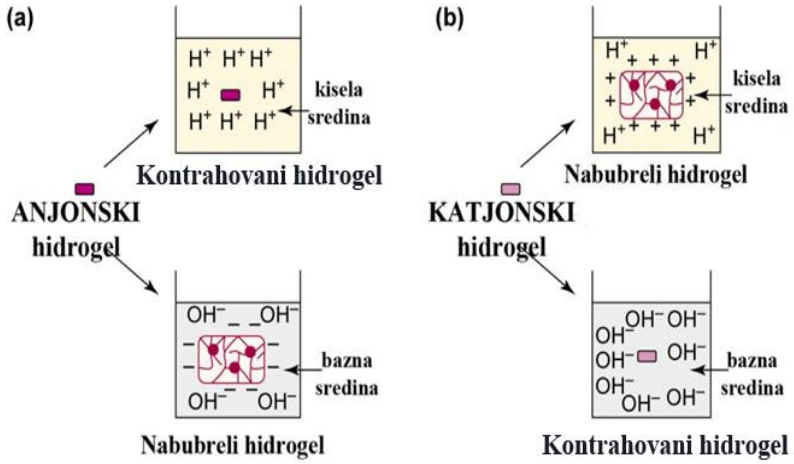
Varijacije pH vrednosti u različitim segmentima ljudskog organizma (gastrointestinalni trakt, krvni sudovi, različita tkiva i organi) predstavljaju osnovu za primenu pH-osetljivih hidrogelova u izradi sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Postojeće razlike u pH vrednostima predstavljaju dovoljno jaku pogonsku silu koja inicira promene u ponašanju pri bubrenju pH-osetljivih hidrogelova, što rezultira preciznim, kontrolisanim otpuštanjem aktivne supstance. Kod pH-osetljivih sistema namenjenih za peroralnu primenu veoma je važna promena pH vrednosti duž gastrointestinalnog trakta (Slika 18).

Primena pH-osetljivih hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci zavisi od tipa jonskih grupa prisutnih u polimernoj mreži. Katjonski hidrogelovi maksimalno bubre u kiseloj sredini što čini ove materijale pogodnim za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koje se apsorbuju preko sluzokože želuca ili koje ispoljavaju svoje delovanje u želucu. Za razliku od katjonskih, anjonski hidrogelovi pronalaze primenu kao nosači aktivnih supstanci koje je potrebno zaštititi u kiseloj sredini (želudac) i otpustiti u neutralnoj i/ili slabo baznoj pH sredini (tanko i debelo crevo).

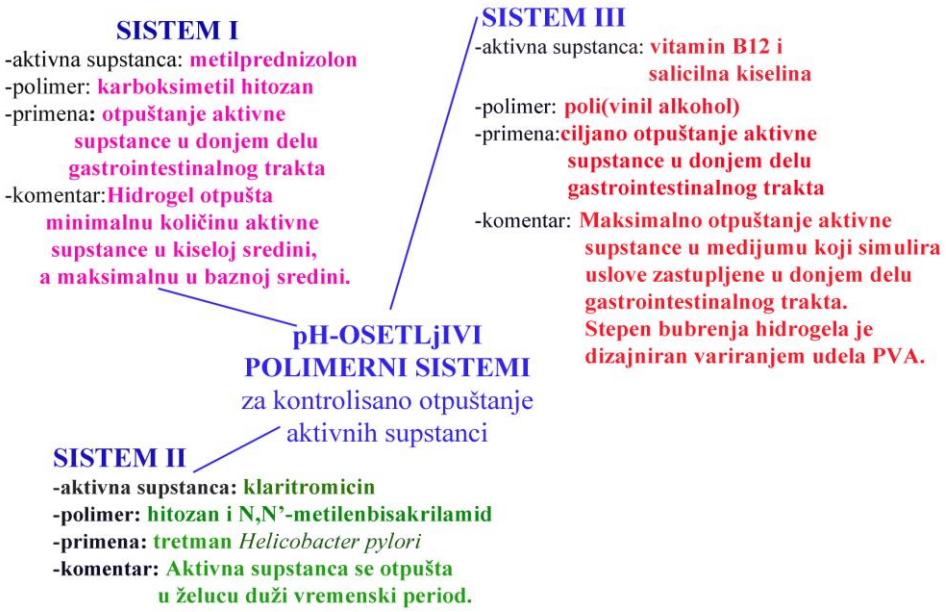


Slika 18. pH vrednosti u pojedinim segmentima gastrointestinalnog trakta [71].

Bubrenje anjonskih hidrogelova u želucu je zanemarljivo malo, tako da je aktivna supstanca u potpunosti zaštićena u kiseloj sredini i efikasno transportovana do donjeg dela gastrointestinalnog trakta gde je potrebno da se apsorbuje ili da ispolji svoje delovanje. Ponašanje katjonskih i anjonskih hidrogelova u medijumima različitih pH vrednosti prikazano je na Slici 19 a) i b). Različiti tipovi aktivnih supstanci se mogu otpuštati iz pH-osetljivih hidrogelova, neki od primera ovakvih sistema su prikazani na Slici 20 [72].



Slika 19. Ponašanje a) anjonskih i b) katjonskih hidrogelova u medijumima različitih pH vrednosti [39].

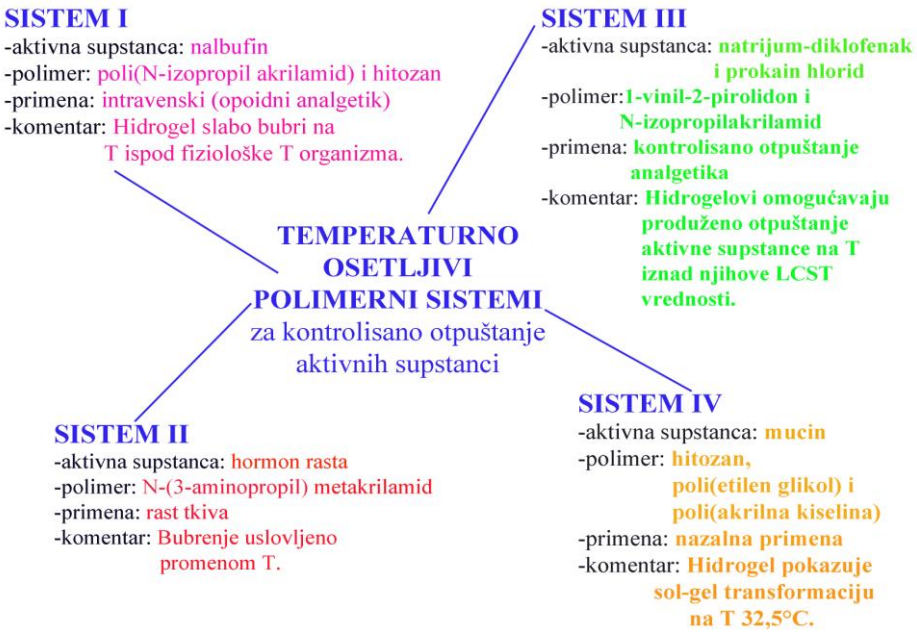


Slika 20. Aktivne supstance i polimeri korišćeni u pH-osetljivim sistema za kontrolisano otpuštanje [72].

2.2.6.2. Temperaturno osetljivi hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Pored pH-osetljivih hidrogelova za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci široku primenu pronašli su i temperaturno osetljivi hidrogelovi jer je temperatura takođe jedan od najčešće promenljivih parametara u organizmu. Temperaturno osetljivi hidrogelovi su dugi niz godina predmet brojnih naučnih istraživanja u kojima su razmatrane različite mogućnosti primene ovih hidrogelova kao biosenzora, „inteligentnih“ nosača ćelijskih kultura i kao sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

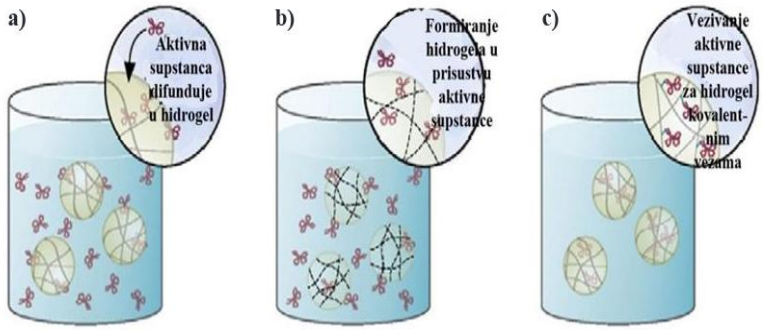
Kao što je prikazano u poglavlju 2.1.4.2. ovog rada, temperaturno osetljive hidrogelove karakteriše specifična vrednost VPTT. Podešavanjem VPTT vrednosti hidrogelova moguće je uticati na njihova svojstva bubrenja u zavisnosti od temperature, što se odražava na dobijanje različitih profila otpuštanja aktivne supstance iz ovih gelova. Važna primena temperaturno osetljivih hidrogelova je u izradi sistema za kontrolisano otpuštanje termo-labilnih aktivnih supstanci kao što su proteini. Na Slici 21 prikazani su polimeri i aktivne supstance korišćeni za izradu temperaturno osetljivih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.



Slika 21. Aktivne supstance i polimeri korišćeni za izradu temperaturno osetljivih sistema za kontrolisano otpuštanje [72].

2.2.7. Načini ugradnje aktivne supstance u hidrogel

Finalna svojstva polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci uslovljene su fizičko-hemijskim svojstvima hidrogela i aktivne supstance. Izbor hidrogela i mehanizma ugradnje aktivne supstance moraju biti usklađeni sa svojstvima aktivne supstance (hidrofilnost, permeabilnost, naelektrisanje, veličina molekula i sl.) i željenim profilom otpuštanja (produženo otpuštanje, ciljano otpuštanje). Na Slici 22 su prikazana tri moguća načina ugradnje aktivne supstance u hidrogel: a) difuzijom, b) ugradnjom aktivne supstance u polimernu mrežu tokom procesa sinteze hidrogela i c) formiranjem kovalentnih veza između aktivne supstance i funkcionalnih grupa polimera [73-77].



Slika 22. Mogući načini ugradnje aktivne supstance u hidrogel: a) ugradnja metodom difuzije, b) ugradnja aktivne supstance tokom sinteze hidrogela i c) formiranje kovalentnih veza između aktivne supstance i funkcionalnih grupa polimera [78].

Svaki od prikazanih načina ugradnje aktivne supstance u hidrogel ima svoje prednosti i mane. Odabir odgovarajućeg načina ugradnje podrazumeva detaljno razmatranje svojstava polimerne mreže i prirode aktivne supstance, kao i željenog profila otpuštanja.

Najjednostavniji metod ugradnje aktivne supstance u hidrogel je uranjanje odabranog hidrogela u rastvor aktivne supstance [79,80]. U zavisnosti od poroznosti gela, veličine molekula aktivne supstance i hemijskih svojstava hidrogela i aktivne supstance, aktivna supstanca će difundovati u hidrogel. Nakon *in vivo* primene ovakvih sistema aktivna supstanca će difundovati iz hidrogela ka susednom tkivu. Otpuštanje aktivne supstance iz ovakvog sistema je moguće održati u vremenskom periodu od nekoliko sati do nekoliko dana. Ovakav pristup je pogodan za ugradnju malih molekula,

dok veći molekuli, poput peptida i proteina, ne mogu lako da difunduju kroz pore hidrogela.

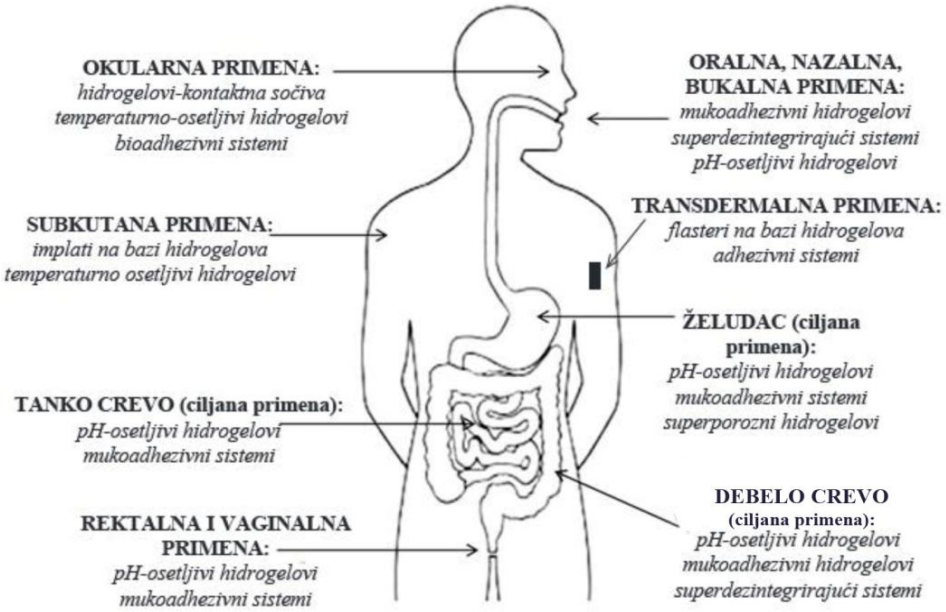
U slučaju većih molekula, ugradnja aktivne supstance se vrši u toku sinteze hidrogela. Aktivna supstanca se meša sa rastvorom monomera, dodaju se umreživač i inicijator i sintetiše se sistem hidrogel-aktivna supstanca. Aktivna supstanca se može otpuštati iz ovog sistema u vremenskom periodu od nekoliko dana do nekoliko nedelja. Oba načina ugradnje aktivne supstance (i difuzija i ugradnja aktivne supstance tokom sinteze hidrogela) omogućavaju slobodno kretanje aktivne supstance iz hidrogela. To neretko može da dovede do pucanja hidrogela nakon *in vivo* primene zbog koncentracionog gradijenta uspostavljenog između hidrogela i okoline [25]. U cilju sprečavanja eventualnog pucanja sistema i izloženosti ogranizma toksičnim koncentracijama, aktivne supstance se mogu fizičkim ili hemijskim vezama zadržati u polimeru [71,72]. Sistemi u kojima je aktivna supstanca ugrađena uspostavljanjem fizičkih ili hemijskih veza sa funkcionalnim grupama polimera, obezbeđuju otpuštanje aktivne supstance u vremenskom periodu od nekoliko nedelja do nekoliko meseci.

Prilikom ugradnje aktivne supstance u hidrogel mora se voditi računa o hidrofilnosti i naelektrisanju molekula aktivne supstance. Poželjno je da aktivna supstanca i hidrogel pokazuju sličnu hidrofilnost i imaju suprotno naelektrisanje.

2.2.8. Putevi primene sistema za kontrolisano otpuštanje na bazi hidrogelova

Prednost hidrogelova kao nosača za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci u odnosu na konvencionalne oralne i intravenske formulacije je višestruka. Kontrolisanim otpuštanjem aktivne supstance iz hidrogela moguće je održavati koncentraciju na željenom/terapijskom nivou duži vremenski period (od 24 h do nekoliko meseci), čime je smanjena frekventnost doziranja, a samim tim i mogućnost pojave neželjenih efekata.

Sistemi za kontrolisano otpuštanje izrađeni na bazi hidrogelova se mogu primeniti: oralno, nazalno, bukalno, subkutano, okularno, rektalno, vaginalno i transdermalno [2]. Na Slici 23 su prikazani mogući putevi primene polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.



Slika 23. Mogući putevi primene polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci [83].

2.2.8.1. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za peroralnu primenu

Peroralnom primenom, hidrogelovi mogu da obezbede otpuštanje aktivne supstance na nekoliko specifičnih mesta u organizmu: usna duplja, želudac, tanko i debelo crevo. Promene ponašanja pri bubrenju, kao i promene mukoadhezivnih svojstava hidrogelova u prisustvu fizioloških fluida, čine ove materijale odličnim kandidatima za izradu sistema koji omogućavaju otpuštanje aktivne supstance pod kontrolisanim uslovima i na željenom/ciljanom mestu.

Gastrointestinalni trakt je nesumnjivo najpopularniji put primene aktivnih supstanci, s obzirom da je u ovom slučaju komplijansa kod pacijenata dobra i da je površina za apsorpciju aktivne supstance velika. To je međutim, i najsloženiji put primene, pa su neophodni različiti pristupi razvoju formulacije za ovu primenu u cilju postizanja boljeg terapijskog efekta.

Sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci na bazi hidrogelova se najčešće primenjuju peroralnim putem [39,84-92]. Jedna od prednosti primene hidrogelova bukalno je njihova sposobnost adhezije na određene regije usne duplje što dovodi do povećane lokalne koncentracije aktivne supstance, a time i do bolje apsorpcije i veće efikasnosti farmakoterapije [93-97]. Dugoročna adhezija hidrogela na sluzokožu usne duplje je veoma važna jer stalno lučenje salive dovodi do ispiranja

sluzokože i razblaženja koncentracije aktivne supstance. Hidrogelovi kao sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci namenjeni za bukalnu primenu koriste se za raznovrsna lokalna lečenja bolesti usne duplje kao što su: paradontopatija, stomatitis, gljivične i virusne infekcije, kancer usne duplje.

Za izradu sistema za otpuštanje aktivnih supstanci u usnoj duplji, dizajnirane su brojne vrste bioadhezivnih hidrogelova počevši od ranih 80-tih godina pa do danas, od kojih se neki mogu naći i na tržištu. Na primer, bioadhezivne tablete koje su dizajnirali Nagai (Nagai) i saradnici, komercijalno su dostupne pod brend nazivom Aftach® [98]. Ovaj proizvod sadrži dva sloja: bioadhezivni sloj od hidroksipropil celuloze i poli(akrilne kiseline) i neadhezivni sloj na bazi laktoze koji predstavlja podlogu. Opisani sistem se koristi za lokalno otpuštanje triamcinolon acetonida u terapiji aftnih čireva. Masti na bazi hidrogelova se takođe mogu koristiti za lečenje određenih bolesti usne duplje. U ovim formulacijama često se koriste lipozomi, koji obezbeđuju povećanje lokalne i smanjenje sistemske koncentracije aktivne supstance u organizmu.

Pored toga, farmakoterapija preko sluzokože usne duplje je jedan od poželjnih načina primene aktivnih supstanci koje nije poželjno izlagati efektu prvog prolaza. Primer tome je hidrogel-mast za otpuštanje *ß*-estradiola u terapiji osteoporoze. Poznato je da oralna primena *ß*-estradiola rezultira veoma niskom bioraspoloživošću aktivne supstance usled efekta prvog prolaza. Hidogel-mast je dobijen mešanjem rastvora etanola koji sadrži *ß*-estradiol sa gliceril monolaurat-om (poboljšivač adhezije) i vodenim rastvorom karboksivinil polimera. *In vivo* studije sprovedene na eksperimentalnim životinjama su pokazale da je bukalna primena formulacije hidrogel-mast rezultirala većom koncentracijom *ß*-estradiola u plazmi nego primena oralne formulacije, bez pojave primarnih morfoloških promena na bukalnoj sluzokoži [99].

Kao i kod bukalnog otpuštanja aktivne supstance, hidrogelovi mogu biti dizajnirani tako da otpuštaju aktivnu supstancu u nekom drugom određenom segmentu gastrointestinalnog trakta. Patel i Amiji (Patel i Amiji) su predložili sistem za kontrolisano otpuštanje antibiotika u želucu, za tretman infekcije čiji je uzročnik bakterija *Helicobacter pylori* [100]. Za lokalno otpuštanje antibiotika u kiseloj sredini želuca ispitivani su katjonski hidrogelovi osetljivi na promenu pH vrednosti. Ispitivani hidrogelovi su bili na bazi liofilizovanog hitozan-polietilen oksida. Otpuštanje dva, najčešće za ovu svrhu korišćena antibiotika, amoksicilina i metronidazola, ispitivano je

u simuliranom želudačnom fluidu. Primećeno je brzo otpuštanje oba antibiotika u želudačnom fluidu, usled postojanja porozne strukture hidrogela dobijene liofilizacijom. Brzo bubrenje i otpuštanje celokupne koncentracije oba antibiotika u vremenskom periodu od 2 h u želudačnom fluidu, čine ovu formulaciju pogodnom za lokalno otpuštanje antibiotika u želucu. Za ovu primenu posebno je značajna brzina otpuštanja aktivnih supstanci s obzirom da vreme pražnjenja želuca može biti ograničavajući faktor u ovim formulacijama.

Veliki izazov brojnih istraživanja predstavlja peroralna primena peptida i proteina [101]. Glavni ograničavajući faktori u ovim formulacijama su inaktivacija proteina usled dejstva digestivnih enzima i slaba permeabilnost ove vrste aktivnih supstanci. Upotrebom određenih hidrogelova i inhibitora digestivnih enzima u ovim formulacijama moguće je prevazići pomenute probleme. Lovmen (Lowman) i saradnici su razvili formulaciju za oralnu primenu insulina, upotrebom pH-osetljivog hidrogela (poli(metilakrilna kiselina) i polietilen glikol), čija je uloga da zaštiti insulin u kiseloj sredini želuca pre otpuštanja [102]. Rezultati *in vivo* studije izvedene na zdravim pacovima i obolelim od dijabetesa pokazali su značajno smanjenje nivoa glukoze u krvi tokom 8 h, kod obe životinje. Važno je napomenuti da su ovi efekti postignuti bez dodatka pojačivača apsorpcije ili inhibitora proteaze.

Sluzokoža debelog creva predstavlja još jednu mogućnost za apsorpciju proteina i peptida primenjenih oralno. Nekoliko tipova hidrogelova su ispitivani kao sistemi za otpuštanje aktivne supstance u debelom crevu. To su hemijski ili fizički umreženi polisaharidi, kao što su: dekstran, pektin, inulin i umrežena poli(akrilna kiselina) [103-105]. Pomenuti hidrogelovi su dizajnirani tako da bubre ili degradiraju u prisustvu enzima ili mikroflore koja je zastupljena u debelom crevu, što rezultira ciljanim otpuštanjem aktivne supstance.

2.2.8.2. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za okularnu primenu

Okularna primena farmaceutskih preparata ograničena je brojnim fiziološkim faktorima među kojima je i zaštitni mehanizam oka, odnosno sposobnost stvaranja suza i ispiranja oka i slaba permeabilnost rožnjače za mnoge aktivne supstance. Konvencionalne kapi za oči koje sadrže rastvor aktivne supstance imaju tendenciju da brzo budu eliminisane iz oka, što ograničava apsorpciju aktivne supstance i rezultira

smanjenom bioraspoloživošću. Kratko vreme zadržavanja aktivne supstance u oku, podrazumeva učestali režim doziranja kako bi se postigao terapijski efekat. Navedena ograničenja kod konvencionalnih okularnih formulacija predstavljaju izazov brojnih istraživanja u cilju razvoja sistema za otpuštanje aktivne supstance koji će obezbediti produženo vreme zadržavanja aktivne supstance u oku.

Pojedine formulacije lekova, kao što su suspenzije i masti, mogu obezbediti duže zadržavanje aktivne supstance u oku, mada ove formulacije često izazivaju kod pacijenta neprijatan osećaj prisustva čvrstih ili polu-čvrstih čestica u oku. Zbog svoje elastičnosti i otpornosti na ispiranje oka, hidrogelovi predstavljaju pogodan materijal za izradu okularnih formulacija [107-111]. Pored toga, hidrogelovi obezbeđuju prijatniji osećaj i manju osetljivost pacijenta. Za izradu polimernih sistema za okularnu primenu posebno su atraktivni hidrogelovi koji se lako doziraju u obliku tečnosti, a zatim na mestu aplikacije formiraju gel koji obezbeđuje duže zadržavanje, odnosno bolju bioraspoloživost aktivne supstance. Koen (Cohen) i saradnici su ispitivali *in situ* hidrogel sistem, sačinjen od alginata sa glukonskom kiselinom za okularno otpuštanje pilokarpina [100]. Ispitivani sistem je obezbedio produženi efekat pilokarpina (10 h) za razliku od konvencionalne formulacije rastvora pilokarpina (3 h).

2.2.8.3. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za transdermalnu primenu

Transderamalni put primene lekova se koristi za lokalnu primenu aktivnih supstanci u terapiji različitih kožnih oboljenja ili za dezinfekciju kože [112-121]. Prednost transdermalnih sistema je u tome što se aktivna supstanca može otpuštati duži vremenski period, konstantnom brzinom, a terapija se može prekinuti jednostavnim uklanjanjem sistema sa kože. Takođe, transdermalnim putem primene izbegava se efekat prvog prolaza aktivne supstance. Zbog visokog sadržaja vode, nabubreli hidrogelovi obezbeđuju bolju komplijansu kod pacijenata u poređenju sa konvencionalnim mastima i flasterima.

Hidrogelovi na bazi polietilen glikola su pokazali odlična svojstva neophodna za izradu transdermalnih sistema i zbog visokog sadržaja vode (preko 96 %) omogućavaju otpuštanje i hidrofilnih i hidrofobnih aktivnih supstanci. Trend u razvoju transdermalnih

sistema podrazumeva razvoj sistema osetljivih na električne impulse indukovane jonoforezom ili elektroforezom.

2.2.8.4. Hidrogelovi u sistemima za kontrolisano otpuštanje za subkutanu primenu

Kao što je već opisano u prethodnom tekstu ovog rada, hidrogelovi se mogu primenjivati na različite načine. Među navedenim putevima primene, veoma je značajna njihova primena u obliku implanta [122-126]. Subkutano implementirani sistemi mogu izazvati slabije ili jače neželjene reakcije organizma kao što su: inflamacija, imunogenetske i kancerogene promene, te je biokompatibilnost preduslov da materijal bude korišćen kao implant. Visok sadržaj vode doprinosi izraženijoj biokompatibilnosti hidrogelova. Pored dobre biokompatibilnosti, hidrogelovi poseduju i druga, za ovu primenu, važna svojstva:

- minimalna mehanička iritacija okolnog tkiva usled meke konzistencije i elastičnih svojstava;
- minimalna mogućnost adhezije proteina i ćelija na površini hidrogelova;
- dobra prihvatljivost velikog broja aktivnih supstanci različite hidrofilnosti/hidrofobnosti i veličine molekula;
- jedinstvene sposobnosti hidrogelova (bubrenje, pH i T-osetljivost, osetljivost na dejstvo magnetnog i električnog polja, na dejstvo ultrazvuka, svetlosti i sl.) omogućavaju kontrolisano otpuštanje aktivne supstance [100,127];
- pojedini tipovi hidrogelova pokazuju veću pogodnost za delikatna otpuštanja poput kontrolisanog otpuštanja peptida i proteina.

Savremena istraživanja u oblasti sistema za kontrolisano otpuštanje koji će se primenjivati kao implanti, usmerena su na razvoj biodegradabilnih sistema koji ne zahtevaju hiruršku intervenciju za uklanjanje sistema nakon otpuštanja celokupne količine aktivne supstance.

Henik (Hennic) i saradnici su sproveli opsežna istraživanja u cilju razvoja degradabilnih hidrogelova na bazi dekstrana [128]. Ispitivani hidrogelovi su predstavljali akrilatne derivate dekstrana. U sprovedenim studijama detaljno je ispitana primena hidrogelova u sistemima za kontrolisano otpuštanje proteina. Morijama (Moriayama) i saradnici su dizajnirali biodegradabilni hidrogel dekstran-

poli(etilenglikol) za kontrolisano otpuštanje insulina [129]. Otpuštanje insulina je kontrolisano površinskom erozijom strukture hidrogela.

2.3. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL)

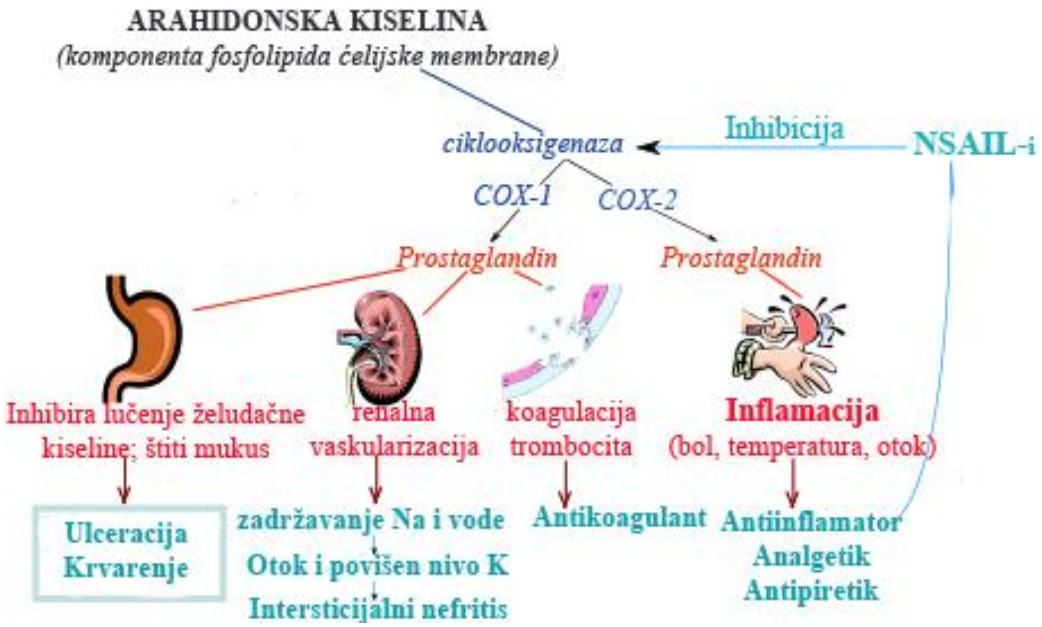
Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL-ovi) poseduju analgetička, antipiretička i antiinflamatorna svojstva i primenjuju se za smanjenje bola i upalnih procesa u reumatskim bolestima i drugim bolnim i febrilnim stanjima [126]. Izraz nesteroidni se koristi kako bi se razlikovali od steroida koji imaju antiupalna dejstva, ali utiču i na psihičko stanje pacijenta. NSAIL-ovi predstavljaju najčešće upotrebljivane lekove što potvrđuje cifra od 70 miliona prepisanih recepata i više od 30 milijardi prodatih tableta na godišnjem nivou samo na teritoriji Sjedinjenih Američkih Država [130]. Iako je bezbednost NSAIL-ova ispitana, kod značajnog broja pacijenata zabeleženi su ozbiljni neželjeni efekti ispoljeni naročito na organima gastrointestinalnog trakta, što dovodi do nezanemarljivog morbiditeta pa čak i mortaliteta [131-136]. Zbog široke upotrebe NSAIL-ova i velikog broja zdravstvenih komplikacija koje izazivaju kod pacijenata, neželjeni efekti ovih lekova su postali znatan medicinski i farmaceutski problem koj je neophodno prevazići.

2.3.1. Mehanizam delovanja NSAIL-ova

Mehanizam delovanja NSAIL-ova zasnovan je na njihovoj sposobnosti da inhibiraju enzim ciklooksigenazu (COX), odnosno njegove izomere COX-1 i/ili COX-2 [137-139]. COX je enzim koji učestvuje u sintezi važnih bioloških medijatora prostanoida, u koje spada prostaglandin. Prostaglandin E2 (PGE2) je proinflamatorni agens i nastaje dejstvom COX-2 enzima. Inhibiranjem COX-2 enzima sprečava se formiranje jedinjenja koja dovode do pojave inflamatornih procesa u organizmu. Mehanizam delovanja NSAIL-ova prikazan je na Slici 24.

NSAL-ovi se na osnovu mehanizma delovanja dele na dve grupe lekova: na COX neselektivne ili klasične (aspirin, ibuprofen, diklofenak i sl.) i na COX-2 selektivne (oksaprozin, celekoksib, meloksikam i sl.). Jedinjenja koja pripadaju neselektivnim lekovima inhibiraju i COX-1 enzim, uzrokujući time oštećenja i iritaciju organa gastrointestinalnalnog trakta, jer je upravo ovaj enzim uključen u fiziološke funkcije zaštite sluznice želuca [140,141]. Shodno tome, veliki istraživački napori

usmereni su na razvoj novih COX-2 selektivnih jedinjenja ili sistema za kontrolisano otpuštanje već postojećih COX inhibitornih jedinjenja kojima će se sprečiti njihovi neželjeni efekti ispoljeni na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta [142].

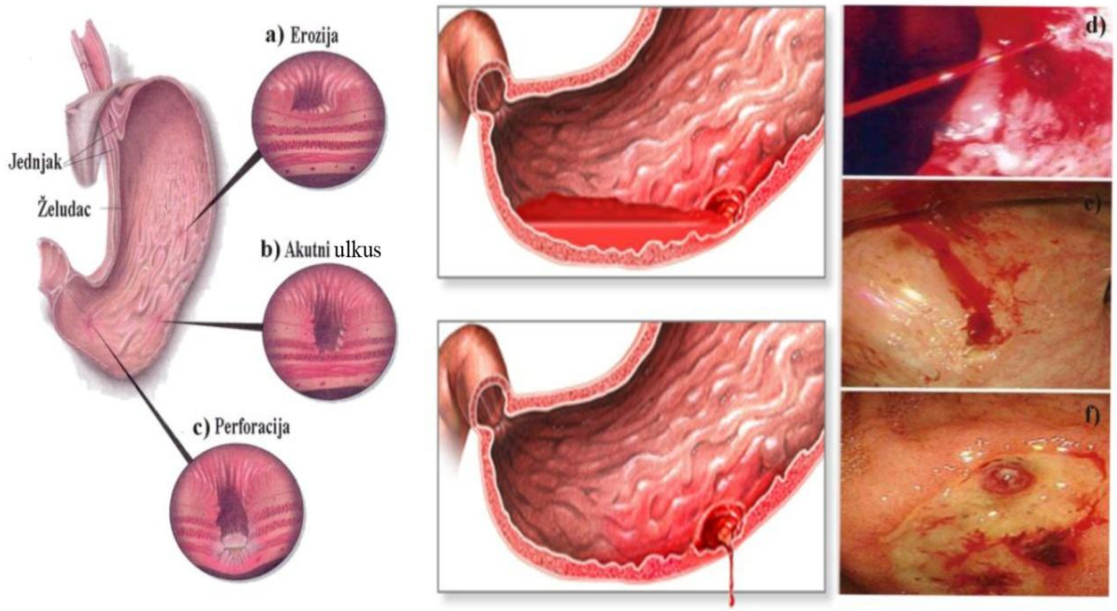


Slika 24. Mehanizam delovanja NSAIL-ova.

2.3.2. Neželjeni efekti NSAIL-ova

Procene rasprostranjenosti neželjenih efekata NSAIL-ova se u velikoj meri razlikuju usled nedovoljno precizne definicije gastrointestinalnih poremećaja koje izazivaju ovi lekovi, kao i razlike u starosti populacije pacijenata, vrsti korišćenog leka, dozi i vremenskom periodu korišćenja. Pacijenti koji su duži vremenski period na terapiji NSAIL-ovima, u većini slučajeva imaju subepitelnu hemoragiju, sitne erozije i često dolazi do nastanka ulkusa [143,144]. Najveći deo ovih lezija (80 %) protiče asimptomatski [145]. Moguće su i teže komplikacije ulkusne bolesti kao što su perforacija želuca, krvarenje i stenoza. Navedene komplikacije pogađaju do 5 % osoba lečenih NSAIL-ovima godišnje, ali je rizik za njihov nastanak kod pacijenata koji koriste NSAIL-ove znatno veći. Takođe, rizik se povećava sa starošću populacije koja koristi NSAIL-ove. U grupi bolesnika starije dobi (najčešći korisnici NSAIL-ova) smrtni ishodi teških komplikacija ulkusne bolesti su češći. Povećanom riziku su izložene i osobe koje redovno uzimaju aspirin radi prevencije infarkta miokarda, oni koji koriste antikoagulanse, kao i osobe koje uzimaju kortikosteroide. Problem oštećenja

gastrointestinalnog trakta nije jedini koji prati dugotrajnu terapiju NSAIL-ovima. Moguća su i oštećenja jetre, bubrega i drugih organa. Neki od neželjenih efekata dejstva NSAIL-ova ispoljeni na želucu prikazani su na Slici 25.



Slika 25. Neželjeni efekti NSAIL-ova ispoljeni na želucu: a) erozija, b) akutni ulkus, c) perforacija zida želuca, d) intenzivno krvarenje ulkusa, e) umereno krvarenje i f) ulkus koji ne krvari.

NSAIL-ovi mogu izazvati promene na bilo kom segmentu gastrointestinalnog trakta, ali najpoznatije, najozbiljnije i najčešće fatalne komplikacije terapije NSAIL-ovima su one koje nastaju na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta (dispepsija, ezofagitis, gastritis tip C, gastrične petehije, erozije, ulceracije, krvarenja i perforacije). Na sluzokoži organa gornjeg dela gastrointestinalnog trakta NSAIL-ovi izazivaju lokalne i sistemske promene. Mehanizmi nastanka ovih devijacija su različiti i međusobno nezavisni. Poznato je nekoliko objašnjenja mehanizma štetnog delovanja NSAIL-ova na gastrointestinalni trakt. Osnovni mehanizam štetnog delovanja NSAIL-ova zasnovan je na inhibiciji sinteze zaštitnih prostaglandina E2 koji u sluznici želuca i duodenuma nastaju uz pomoć enzima COX-2. Međutim, pored ovog osnovnog mehanizma štetnog delovanja NSAIL-ova, poznati su i drugi mehanizmi direktnog i indirektnog neželjenog delovanja ovih lekova, koje je moguće prevazići adekvatnom formulacijom aktivne supstance.

Mehanizam koji podrazumeva direktno neželjeno delovanje NSAIL-ova na gastrointestinalni trakt može se objasniti time što su većina NSAIL-ova slabe kiseline koje se akumuliraju znatno više u segmentima i prostorima sa niskom vrednošću pH, kao što su želudac i sinovijalna tečnost zglobova pod upalnim procesom. Kako su NSAIL-ovi kiseline, one u kiselom medijumu želudačnog soka ne jonizuju već slobodno prelaze u ćeliju preko ćelijske membrane, a zatim u intracelularnom prostoru disosuju i oslobađaju H^+ jone. Ova jedinjenja oštećuju ćelije sluzokože želuca i ostalih organa gornjeg dela gastrointestinalnog trakta tako što povećavaju propustljivost ćelijske membrane i sprečavaju sintezu bikarbonata i sluzi. Poznato je da sluz i bikarbonati imaju funciju zaštitne barijere sluzokože. Narušavanjem sinteze sluzi i bikarbonata, želudačna kiselina i pepsin mogu nesmetano da ispolje svoje razarajuće dejstvo na ćelije želuca. Na taj način želudačna kiselina igra glavnu ulogu u oštećenju sluznice želuca i dvanaestopalačnog creva usled terapije NSAIL-ovima. Stoga je razumljivo što su inhibitori protonske pumpe koji blokiraju sintezu hlorovodonične kiseline lekovi izbora u prevenciji i lečenju ovih oštećenja [146]. NSAIL-ovi u tankom crevu izazivaju promene koje se manifestuju gubitkom belančevina i blagom anemijom, usled čega u retkim slučajevima može doći do hipoalbuminemije i edema. Kod bolesnika sa hroničnim inflamatornim bolestima debelog creva mogu dovesti do teškog pogoršanja bolesti, bilo da se radi o divertikulitisu, kolitisu, ulceracijama, krvarenjima ili perforacijama [145]. Neželjeni efekti direktnog delovanja NSAIL-ova na organe gornjeg dela gastrointestinalnog trakta se mogu prevazići razvojem formulacije koja će sprečiti otpuštanje NSAIL-ova u kiseloj sredini želuca. Polimerne pH-osetljive matrice predstavljaju odlične kandidate za prevenciju neželjenih efekata NSAIL-ova.

Mehanizam koji podrazumeva indirektno štetno delovanje NSAIL-ova na gornji deo gastrointestinalnog trakta zasniva se na tome da su neki od lekova iz grupe NSAIL-ova formulisani kao prolek i za prelazak u aktivnu formu moraju prethodno da se metabolički aktiviraju u jetri, a potom se kao aktivna supstanca izlučuju preko žuči u duodenum. Iz duodenuma aktivna supstanca može da se vrati bilijarnim duodenogastričnim refluksom u želudac i da izazove oštećenja [146]. Neželjeni efekti nastali na opisan način se mogu prevazići razvojem sofisticiranih formulacija koje ne zahtevaju metaboličku aktivaciju leka.

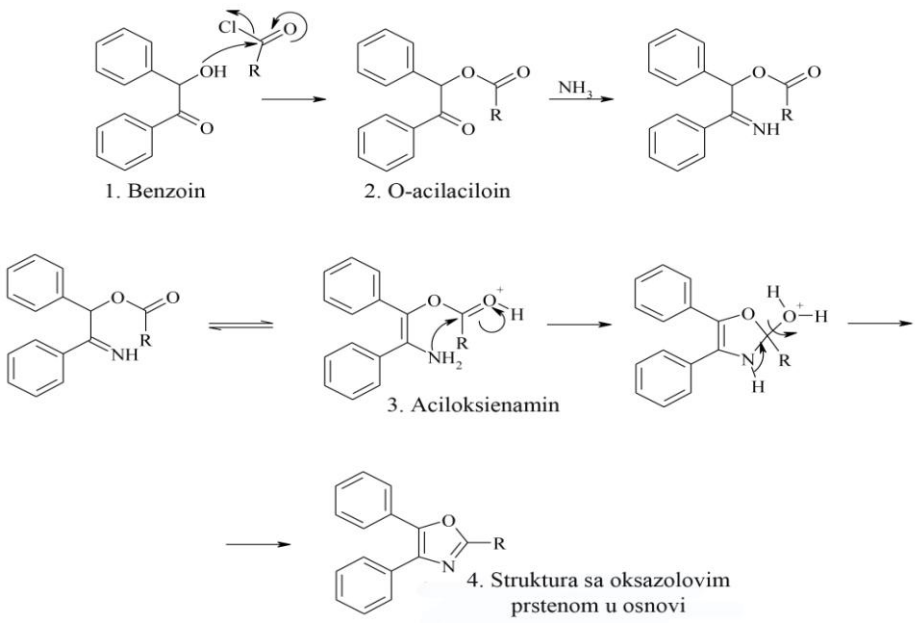
Poseban problem pri upotrebi NSAIL-ova, koji je takodje važno naglasiti, je velika dostupnost ovih lekova pacijentima koji ih vrlo često koriste i kombinuju ne savetujući se sa lekarom ili farmaceutom o rizicima kojima se izlažu. Pored edukacije opšte populacije, lekara i farmaceuta o pravilnoj upotrebi NSAIL-ova, jedan od načina za smanjenje rizika je razvoj novih, sofisticiranih formulacija NSAIL-ova kojima će se obezbediti efikasna i bezbedna terapija ovim lekovima.

2.3.3. Oksaprozin

Oksaprozin (3-(4,5-difeniloksazol-2-il)propanska kiselina) pripada grupi NSAIL-ova, koristi se za lečenje brojnih inflamatornih mišićno-skeletnih bolesti, uključujući reumatoidni artritis, osteoartritis, upale tetiva, postoperativnih bolova zuba, ankilozirajući spondilitis i burzitis [147-150]. Američka adminisracija za hranu i lekove (Food and Drug Administration, FDA) odobrila je zvaničnu upotrebu oksaprozina u oktobru 1992. godine [151]. Povoljna hemijska i farmakokinetička svojstva izdvajaju oksaprozin od ostalih lekova iz iste klase jedinjenja i čine ga jednim od najviše upotrebljivanih NSAIL-ova u SAD [152].

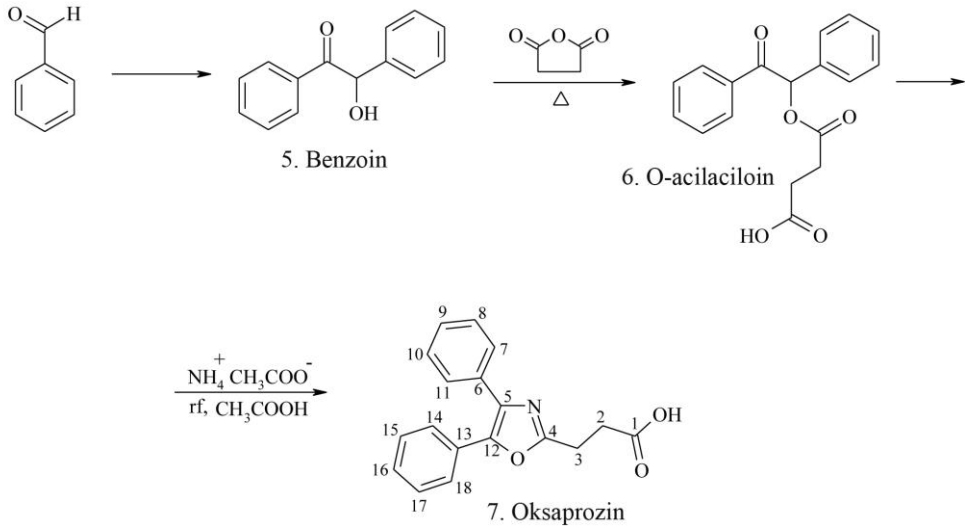
2.3.3.1. Sinteza oksaprozina

Sinteza oksaprozina bazirana je na principu Dejvidsonove (Davidson) sinteze oksazola [153]. Primenom ove metode, supstituisani oksazoli se dobijaju reakcijama kondezacije O-acilaciloina sa amonijakom, amonijum-acetatom ili ureom. Mehanizam Dejvidsonove sinteze prikazan je na Shemi 1 [158]. U reakciji benzoina (1) sa hloridom ili anhidridom odgovarajuće kiseline dobija se O-acilaciloin (2), koji u reakciji sa amonijum-acetatom u glacijalnoj sirćetnoj kiselini kao proizvod daje odgovarajući derivat sa oksazolovim prstenom u svojoj osnovi (4). Intermedijer u ovoj reakciji je aciloksienamin (3).



Shema 1. Mehanizan Dejvidsonove sinteze [158].

Sinteza oksaprozina Dejvidsonovom metodom (Shema 1) prikazana je na Shemi 2. U prvom koraku sinteze, iz benzaldehida benzoinskom kondezacijom pri odgovarajućim reakcionim uslovima u prisustvu katalizatora dobija se benzoin (α-hidroksi keton) (5). Esterifikacijom anhidrida ćilibarne kiseline nastalim benzoinom (5) dobija se O-acilacilion (hemisukcinat) (6), koji u reakciji sa amonijum-acetatom u sirćetnoj kiselini kao proizvod daje oksaprozin (7). Naknadnom prekristalizacijom iz metanola dobija se oksaprozin visoke čistoće u prinosu od 72 % u odnosu na benzoin [154].



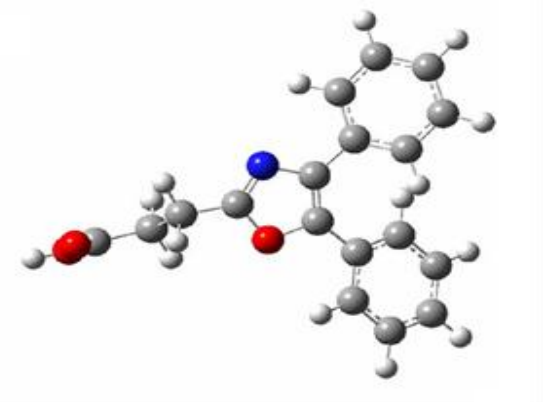
Shema 2. Sinteza oksaprozina [158].

2.3.3.2. Fizičko-hemijska svojstva oksaprozina

Oksaprozin, bruto formule $C_{18}H_{15}NO_3$ i molske mase 293 g mol^{-1} je prah bele do sivo-bele boje, karakterističnog mirisa i temperature topljenja 162–163 °C. Umereno se rastvara u alkoholu, u vodi je nerastvoran. Vrednost log P (koeficijent raspodele u sistemu oktanol/voda) iznosi 3,7 pri fiziološkoj vrednosti pH = 7,40. Vrednost pK_a u vodi iznosi 4,3, a biološko poluvreme raspada jedinjenja je 54,9 h [155,158].

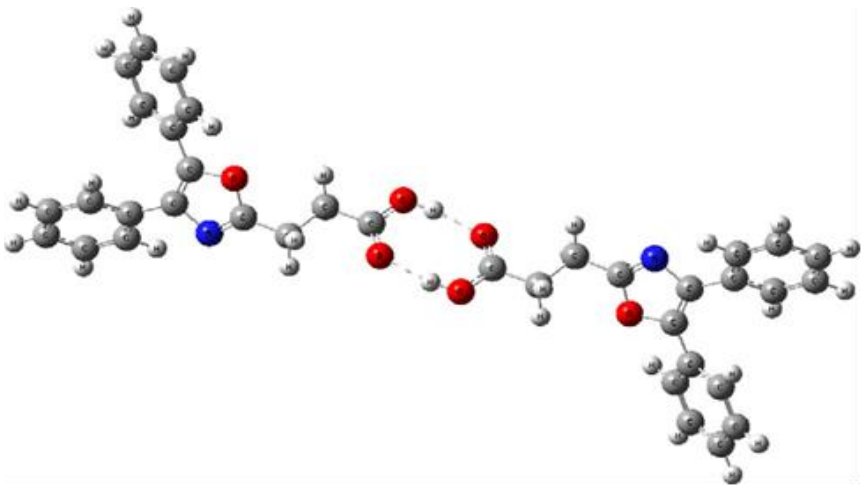
Oksaprozin je nerastvorna i visoko permeabilna aktivna supstanca i kao takav pripada klasi II Biofarmaceutskog klasifikacionog sistema (BCS) [156]. Aktivne supstance koje pripadaju klasi II BCS predstavljaju poseban izazov brojnih naučnih istraživanja u oblasti razvoja njihovih farmaceutskih formulacija.

Specifično svojstavo molekula oksaprozina je i njegova sposobnost da gradi dimere. Geometrijska interpretacija monomerne strukture oksaprozina, određena pomoću B3LYP i HF teoretskih modela koristeći 6-31G (d, p) osnovni set, prikazana je na Slici 26 [157].



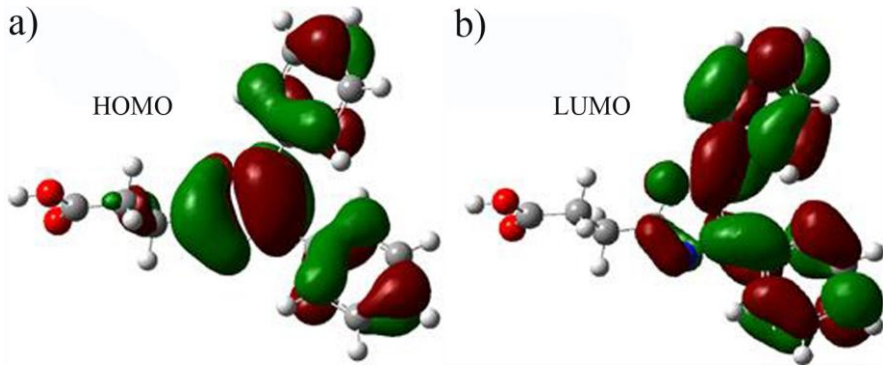
Slika 26. Optimizovana struktura oksaprozina dobijena korišćenjem B3LYP/6-31G (d, p) modela [157].

Pored geometrije monomera, određeni su i molekularni geometrijski parametri dimera oksaprozina primenom iste metode (B3LYP/6-31G (d, p) model) i njegova optimizovana struktura prikazana je na Slici 27. Struktura dimera nastaje uspostavljanjem intermolekulske vodonične veze preko kiseonika iz karboksilnih grupa monomera molekula oksaprozina. Izračunata vrednost dužina vodoničnih veza iznosi 0,2721 nm [157].



Slika 27. Optimizovana struktura dimera oksaprozina dobijena korišćenjem B3LYP/6-31G (d, p) modela [157].

Pored geometrijske strukture monomera i dimera oksaprozina, predstavljen je 3D prikaz za HOMO i LUMO orbitale ispitivanog molekula dobijene primenom HF/6-31G (d, p) modela (Slika 28). Najviše popunjene molekulske orbitale (HOMO) i najniže nepopunjene molekulske orbitale (LUMO) uglavnom su lokalizovane na oksazolovom prstenu i π-vezama fenilnih jezgara molekula oksaprozina [157].



Slika 28. 3D prikaz za a) HOMO i b) LUMO molekulske orbitale kod oksaprozina [157].

2.3.3.3. Mehanizam delovanja i neželjeni efekti oksaprozina

Osnovni mehanizam antiinflamatornog i analgetskog delovanja oksaprozina zasnovan je na njegovoj sposobnosti selektivne inhibicije COX-2 enzima. Pored ovog osnovnog mehanizma delovanja oksaprozina, potvrđeni su i drugi mehanizmi koji su u potpunosti nezavisni od COX-2 inhibicije [159]. Povoljnom antiinflamatornom efekatu

oksaprozina doprinosi i njegov izraženiji afinitet akumulacije u inflamiranoj sinoviji u poređenju sa nivoom akumulacije u plazmi i sinovijalnoj tečnosti.

Specifična svojstva oksaprozina ga čine češće primenjivanim lekom u terapiji inflamatornih oboljenja u poređenju sa ostalim NSAIL-ovima, kao što su: aspirin, naproksen, indometacin i fenilbutazon. Prednost oksaprozina se najpre ogleda u njegovoj sposobnosti selektivne COX-2 inhibicije čime se smanjuje mogućnost gastrointestinalnih iritacija i neželjenih efekata u poređenju sa ostalim lekovima iz iste klase. Pored toga, oksaprozin karakteriše i dobra komplijansa kod pacijenata usled oralnog doziranja u jednodnevnom režimu [160,161]. Navedene prednosti svrstavaju oksaprozin u jedan od najviše upotrebljivanih NSAIL-ova [152]. Međutim, pored brojnih povoljnih efekata terapije oksaprozinom, zabeleženi su i brojni slučajevi sa neželjenim efektima. Najčešći neželjeni efekti terapije oksaprozinom su gastrointestinalne komplikacije, disfunkcija bubrega, hipersenzitivnost, komplikacije kod astmatičara, oštećenja jetre, hipertenzija, pojava tromba, srčana insuficijencija, infarkt miokarda [161,162]. Većina navedenih komplikacija nastaje asimptomatski. Među navedenim neželjenim efektima oksaprozina, najozbiljnije su komplikacije koje nastaju na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta (ulceracije, krvarenje, perforacije). Mehanizam nastanka ozbiljnih oštećenja organa gornjeg dela gastrointestinalnog trakta se može objasniti time da u kiseloj sredini želuca molekuli oksaprozina prolaze kroz ćelijsku membranu i u intracelularnom prostoru disosuju, oslobađajući H^+ jone. Na ovaj način propustljivost ćelijske membrane postaje veća, a nastali H^+ joni sprečavaju sintezu bikarbonata i sluzi koji imaju ulogu zaštite sluzokože. Narušavanje sinteze bikarbonata i sluzi omogućava želudačnoj kiselini i pepsinu da ispolje svoje razarajuće dejstvo i time dodatno oštete ćelije organa gornjeg dela gastrointestinalnog trakta. Prevencija neželjenih efekata oksaprozina na organe gornjeg dela gastrointestinalnog trakta može se obezbediti razvojem formulacije oksaprozina koja će onemogućiti njegovo otpuštanje u segmentima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta.

2.3.3.4. Farmaceutske dozne forme oksaprozina

Terapija oksaprozinom podrazumeva njegovu oralnu primenu i na taj način se apsorbuje 95 % oksaprozina. Hrana može da utiče na stepen apsorpcije, ali ne u znatnoj

meri. Oksaprozin se metaboliše u jetri i skoro u potpunosti eliminiše metaboličkim putevima.

Dozne forme oksaprozina koje su trenutno dostupne na tržištu su tablete i obložene tablete, jačine 600 mg. Uobičajena dnevna doza oksaprozina je 600 ili 1200 mg, maksimalna dnevna doza je 1800 mg [163]. Ukupna dnevna doza se može podeliti na nekoliko manjih dnevnih doza ukoliko je kod pacijenta primećena netolerancija na celokupnu dnevnu dozu oksaprozina aplikovanu u jednokratnom režimu.

Brojni ozbiljni neželjeni efekti terapije oksaprozinom, kao i često dugačak vremenski period medikacije ovim lekom (zbog prirode bolesti), ukazuju na neophodnost razvoja formulacije za kontrolisano otpuštanje oksaprozina kojom će se prevazići navedeni nedostaci njegove konvencionalne dozne forme. Jedinstvena svojstva „inteligentnih“ hidrogelova čine ih potencijalnim kandidatima za izradu efikasnih sistema za kontrolisano otpuštanje oksaprozina.

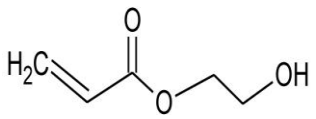
3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline

3.1.1. Materijali

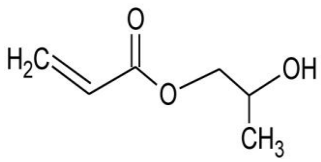
Za sintezu hidrogelova korišćeni su sledeći monomeri:

- ***2-hidroksietil akrilat*** (HEA, Sigma Aldrich, 96,0 %), bruto formule $C_5H_8O_3$, molske mase 116,12 g mol^{-1}, je bezbojna do bledo-žute boje tečnost. Rastvara se u vodi i organskim rastvaračima. Gustina ovog monomera je 1,011 g cm^{-1} (na 25 °C), a temperatura ključanja 190–192 °C [164]. Strukturna formula 2-hidroksietil akrilat-a je prikazana na Slici 29.



Slika 29. Strukturna formula 2-hidroksietil akrilat-a.

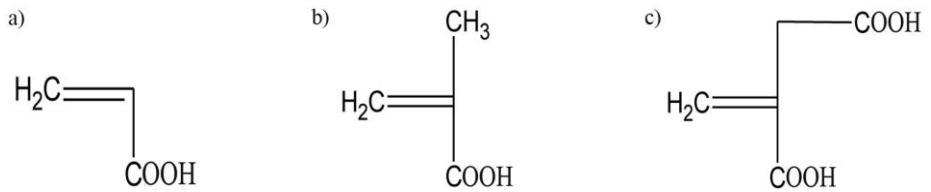
- ***2-hidroksipropil akrilat*** (HPA, Sigma Aldrich, 97 %), bruto formule $C_6H_{10}O_3$, molske mase 130,145 g mol^{-1}, je bezbojna tečnost. Rastvara se u vodi i organskim rastvaračima. Gustina ovog monomera je 1,049 g cm^{-1}, a temperatura ključanja je 205–207 °C [165]. Strukturna formula 2-hidroksipropil akrilat-a je prikazana na Slici 30.



Slika 30. Strukturna formula 2-hidroksipropil akrilat-a.

- ***Itakonska kiselina*** (IK, Fluka, 99,6 %), bruto formule $C_5H_6O_4$, molske mase 130,10 g mol^{-1}, je prah kristalno bele boje, temperature topljenja 162–164 °C i gustine 1,63 g cm^{-1} [166,167]. IK je nezasićena dikarbonska kiselina, koja je po strukturi slična akrilnoj i metakrilnoj kiselini (Slika 31). Konstante disocijacije karboksilnih grupa itakonske kiseline su pK_{a1}=3,85 i pK_{a2}=5,45. Itakonska kiselina ima dvostruku

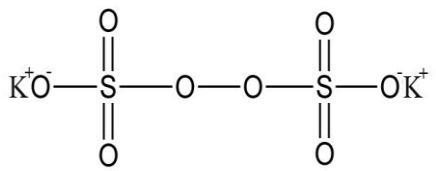
vezu u konjugovanom položaju prema karboksilnoj grupi i metilensku grupu koja je aktivirana drugom karboksilnom grupom.



Slika 31. Strukturna formula a) akrilne kiseline, b) metakrilne kiseline i c) itakonske kiseline.

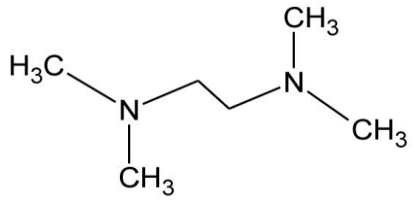
Pored prethodno navedenih monomera, za sintezu hidrogelova korišćene su i sledeće komponente:

- ***Inicijator*** - kalijum persulfat (KPS, Fluka, 99,99 %), bruto formule $K_2S_2O_8$, molske mase 270,32 g mol^{-1}, je bela kristalna supstanca rastvorna u vodi [168]. Koristi se za sintezu kopolimernih hidrogelova. Strukturna formula kalijum persulfat-a je prikazana na Slici 32.



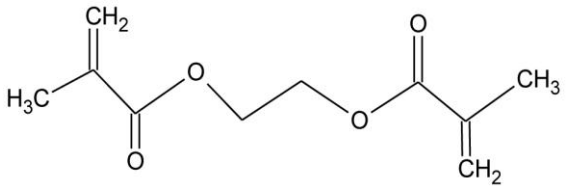
Slika 32. Strukturna formula kalijum persulfat-a.

- ***Ubrzivač*** - *N,N,N',N'*–tetrametiletilen diamin (TEMED, Aldrich, 99 %), bruto formule $C_6H_{16}N_2$, molske mase 116,20 g mol^{-1}, je žućkasta tečnost neprijatnog i oštrog mirisa, rastvorna u vodi [168]. Strukturna formula *N,N,N',N'*–tetrametiletilen diamin-a je prikazana na Slici 33.



Slika 33. Strukturna formula *N,N,N',N'*–tetrametiletilen diamin-a.

- ***Umreživač*** - etilen glikol dimetakrilat (EGDMA, Aldrich, 98 %), bruto formule $C_{10}H_{14}O_4$, molske mase 198,22 g mol^{-1} je bezbojna tečnost, nerastvorna u vodi [168]. Strukturna formula etilen glikol dimetakrilat-a je prikazana na Slici 34.



Slika 34. Strukturna formmula etilen glikol dimetakrilat-a.

3.1.2. Sinteza hidrogelova

Sinteze dve serije hidrogelova su izvedene radikalnom polimerizacijom na 50 °C, tokom 24 h. Prvu seriju hidrogelova čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline (P(HEA/IK)), dok drugu seriju čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline. (P(HPA/IK)). U obe serije hidrogelova variran je udeo itakonske kiseline (0,0; 2,0; 3,5; 5,0 i 7,0 mol % IK). U skladu sa udelom IK, hidrogelovi su obeleženi na sledeći način: hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline - PHEA, P(HEA/2IK), P(HEA/3.5IK), P(HEA/5IK) i P(HEA/7IK), dok su hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline po istom principu obeleženi sledećim oznakama - PHPA, P(HPA/2IK), P(HPA/3.5IK), P(HPA/5IK) i P(HPA/7IK).

Količine svih reaktanata potrebnih za sintezu hidrogelova prikazane su u Tabeli 2. Odmerene količine monomera su rastvorene u smeši etanol/voda, dok je inicijator rastvoren u vodi. Rastvorene komponente su pomešane, dodata je odmerena količina umreživača, zatim je reakciona smeša degazirana u atmosferi azota u trajanju od 15 minuta. Po završetku degazacije, dodata je odmerena količina ubrzivača i reakciona smeša je izlivena između dve staklene ploče oivičene PVC crevom. Po završetku reakcije polimerizacije, dobijeni hidrogelovi su sečeni u diskove prečnika 10 mm i debljine 2 mm. Diskovi su potpoljeni u destilovanu vodu u cilju uklanjanja eventualnih neproreagovalih rezidua. Destilovana voda je svakodnevno menjanja tokom sedam dana. Nakon toga, diskovi su izvađeni iz destilovane vode i sušeni na sobnoj temperaturi do konstantne mase. Suvi uzorci su bili prečnika 5 ± 1 mm i debljine 1 ± 0,5 mm.

Tabela 2. Količine reaktanata potrebne za sintezu P(HEA/IK) i P(HPA/IK) hidrogelova.

	PHEA/ PHPA	P(HEA/2IK)/ P(HPA/2IK)	P(HEA/3.5IK)/ P(HPA/3.5IK)	P(HEA/5IK)/ P(HPA/5IK)	P(HEA/7IK)/ P(HPA/7IK)
HEA/HPA (g)	1,000	0,980	0,965	0,950	0,930
IK (g)	0,000	0,020	0,035	0,050	0,070
KPS (g)	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
EGDMA (g)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
TEMED (g)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

3.2. Sinteza aktivne supstance

3.2.1. Materijali

Za sintezu oksaprozina korišćene su sledeće hemikalije: benzoin, $C_{14}H_{12}O_2$, p.a. (Fluka, Switzerland); ćilibarna kiselina, $C_4H_6O_4$, p.a. (Fluka, Switzerland); amonijum-acetat, CH_3COONH_4, p.a. (Fluka, Switzerland); natrijum-karbonat, Na_2CO_3, p.a. (Fluka, Switzerland);

Svi reagensi korišćeni su bez dodatnog prečišćavanja. Osim navedenih hemikalija u čvrstom stanju, korišćeni su i različiti organski rastvarači: metanol, dietil etar, glacijalna sirćetna kiselina i svi su bili p.a. čistoće.

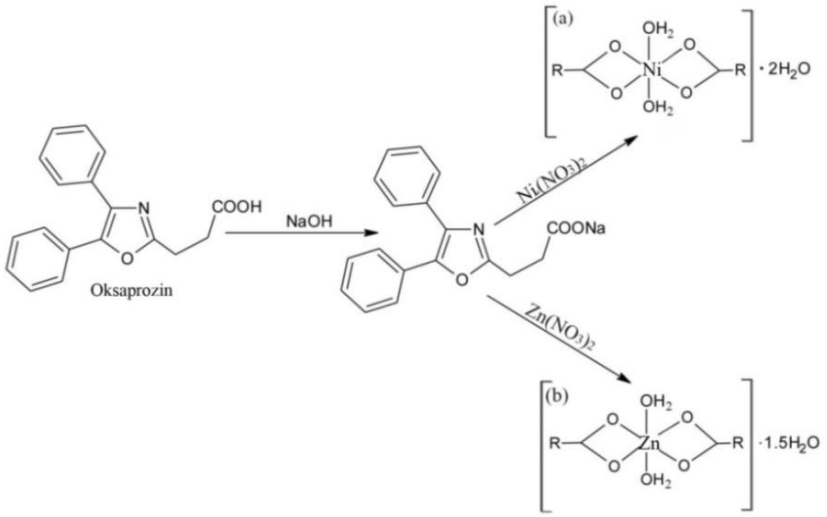
3.2.2. Sinteza oksaprozina i njegovih derivata

Oksaprozin (OXA) je sintetisan prema postupku opisanom u literaturi [154,158] (Shema 2). U prvoj fazi sinteze, reakciona smeša benzoina (21,2 g) i anhidrida ćilibarne kiseline (10,0 g) zagrevana je 6 h na temperaturi od 120 °C. Nakon hlađenja do sobne temperature proizvod je rastvaran u etru, a zatim ekstrahovan rastvorom natrijum-karbonata. Osnovni sloj je ispiran etrom, a zatim zakišeljen koncentrovanom hlorovodoničnom kiselinom. Dobijeni proizvod u formi ulja ekstrahovan je etrom, potom ispran vodom i sušen preko noći magnezijum-sulfatom. Uparavanjem rastvarača dobijen je željeni hemisukcinat kao polazni reagens za sledeću fazu.

U drugoj fazi sinteze 15 g hemisukcinata i amonijum-acetata je rastvoreno u 100 ml glacijalne sirćetne kiseline. Reakciona smeša je zagrevana uz refluks 1,5 h. Nakon hlađenja do sobne temperature, rastvor je izliven u višestruko veću zapreminu vode što

je dovelo do formiranja taloga. Nastali talog je izdvojen cеđenjem na vakuumu, ispran vodom i prekristalisan iz metanola [158].

Pored aktivne supstance – oksaprozin, za ispitivanje efikasnosti primene sintetisanih hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, korišćeni su i derivati oksaprozina. U tu svrhu su korišćeni kompleksi prelaznih metala (Ni(II) i Zn(II)) sa oksaproznom, kao potencijalno biološki aktivne supstance sa antiproliferativnim efektom [195]. Postupak sinteze derivata osaprozina, Ni(II) i Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom, prikazan je na Shemi 3.



Shema 3. Sinteza: a) Ni(II) i b) Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom (R-ligand OXA) [158].

3.3. Ugradnja aktivne supstance u hidrogelove

Ugradnja aktivne supstance u sintetisane hidrogelove je izvršena metodom difuzije. Za svaki uzorak hidrogela je napravljen rastvor aktivne supstance (5 % aktivne supstance u odnosu na ukupnu masu suvog gela u 10 ml pufera pH 8,00 – za oksaprozin, odnosno u 10 ml smeše dimetilsulfoksid/puffer pH 8,00 – za derivate oksaprozina). Suvi uzorci gelova su potopljeni u 10 ml rastvora aktivne supstance i ostavljeni su da bubre tokom 48 h, kako bi se aktivnoj supstanci obezbedilo dovoljno vremena da difunduje u polimernu mrežu. Nakon toga, uzorci su izvađeni iz rastvora leka i sušeni na sobnoj temperaturi do konstantne mase i dalje korišćeni u eksperimentima karakterizacije hidrogelova, kao i za ispitivanje otpuštanja aktivne supstance.

3.3.1. Efikasnost ugradnje aktivne supstance

Efikasnost ugradnje aktivne supstance (E) u sintetisane hidrogelove izračunata je primenom sledeće formule [169,170]:

$$E\ (\%) = \frac{sadržaj\ leka\ u\ hidrogelu}{teorijski\ \ sadržaj\ leka} \times 100 \qquad (8)$$

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. Koncentracije leka u rastvoru pre i nakon ugradnje su izmerene pomoću UV-Vis spektrofotometra (Shimadzu UV/Vis Spectrophotometer UV–1800) merenjem apsorbance na λ=284 nm za oksaprozin i njegove derivate.

3.4. Karakterizacija hidrogelova pre i posle ugradnje aktivne supstance

3.4.1. Ispitivanje bubrenja hidrogelova

Bubrenje čistih hidrogelova, kao i hidrogelova sa ugrađenom aktivnom supstancom je praćeno gravimetrijski. Hidrogelovi osušeni do konstantne mase su potopljeni u 15 ml pufera određene pH vrednosti. U određenim vremenskim intervalima, uzorci su vađeni iz pufera, filter papirom je pažljivo uklonjen višak pufera sa površine uzorka i merena je masa nabubrelog hidrogela. Stepen bubrenja (q_t) je računat primenom sledeće jednačine:

$$q_t = \frac{m_t - m_o}{m_o} \qquad (9)$$

gde su: m_t - masa nabubrelog gela u vrement t i m_o – masa suvog gela.

Ravnotežni stepen bubrenja (q_e) je izračunat prema sledećoj jednačini [171,172]:

$$q_e = \frac{m_e - m_o}{m_o} \qquad (10)$$

gde je m_e masa hidrogela u stanju ravnoteže.

3.4.1.1. Ispitivanje pH i temperaturne osetljivosti

U cilju ispitivanja pH i temperaturne osetljivosti sintetisanih hidrogelova, kao i uticaja ugrađene aktivne supstance na njihovo „inteligentno“ ponašanje, proces bubrenja je praćen u puferima fiziološkog opsega pH vrednosti (pH: 2,20; 3,85; 4,50; 5,45; 6,20; 6,80; 7,40 i 8,00) kao i u temperaturnom opsegu od 30 do 50 °C. Upoređivanjem dobijenih rezultata, utvrđen je uticaj hemijskog sastava hidrogela kao i tipa ugrađene aktivne supstance na pH i temperaturnu osetljivost sintetisanih hidrogelova.

3.4.1.2. Ispitivanje reverzibilnog ponašanja pri bubrenju hidrogelova

Reverzibilno ponašanje sintetisanih hidrogelova pri bubrenju ispitano je praćenjem bubrenja hidrogelova pri variranim uslovima pH i temperature. Suvi hidrogelovi potpoljeni su najpre u pufer pH vrednosti 7,40 i ostavljeni da bubre do ravnoteže. Nakon dostizanja ravnotežnog stanja uzorci su prebačeni u pufer pH vrednosti 2,20 i praćeno je njihovo bubrenje do ponovnog dostizanja ravnoteže. Ciklus je ponovljen dva puta na 37 °C. Temperaturna reverzibilnost je ispitana praćenjem bubrenja hidrogelova najpre u medijumu temperature 37 °C do dostizanja ravnotežnog stanja, a zatim su uzorci prebačeni u medijum temperature 40 °C. Ciklus je ponovljen dva puta u puferu pH 7,40.

3.4.1.3. Ispitivanje bubrenja u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta

Imajući u vidu namenu sintetisanih hidrogelova kao sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci za oralnu primenu, svojstva bubrenja sintetisanih hidrogelova bez i sa ugrađenom aktivnom supstancom praćena su u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta. Suvi uzorci su najpre potopljeni u pufer pH vrednosti 2,20 i praćeno je njihovo bubrenje u periodu od 2 h, što odgovara pH vrednosti i vremenu zadržavanja u želucu. Nakon toga uzorci su prebačeni u pufer pH vrednosti 6,80 i praćeno je njihovo bubrenje u toku 6 h što simulira pH vrednost i vreme prolaska kroz tanko crevo. Na posletku, bubrenje hidrogelova je praćeno u puferu pH 8,00 u toku 12 h što simulira pH uslove i vreme prolaza kroz donji deo gastrointestinalnog trakta. Stepen bubrenja hidrogelova u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta praćen je na 37 °C.

3.4.1.4. Određivanje kinetičkih parametara bubrenja

U cilju ispitivanja difuzionih svojstava čistih i hidrogelova sa ugrađenom aktivnom supstancom izračunati su kinetički parametri bubrenja primenom jednačine 7. Logaritamski oblik ove jednačine je korišćen za izračunavanje vrednosti parametara *n* i *k* (iz nagiba i odsečka linearnog dela krive dobijene iz podataka bubrenja) [173]. Difuzioni koeficijent *D* je izračunat na osnovu dobijenih vrednosti parametra *k* i *n*, primenom sledeće jednačine [174]:

$$D = k^{1/n} \pi \frac{l^2}{16} \tag{11}$$

gde su: *l* debljina uzorka, *n* – difuzioni eksponent, *k* – kinetička konstanta bubrenja.

3.4.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IC)

Strukturna analiza sintetisanih hidrogelova izvršena je infracrvenom spektroskopijom sa Furijeovom transformacijom (FT-IC). Suvi uzorci čistih gelova, kao i gelova sa ugrađenom aktivnom supstancom su usitnjeni, pomešani i sprašeni sa kristalnim kalijum bromidom (Merck, spektroskopske čistoće) u odnosu 1:100 i komprimovani u providne diskove pomoću vakuum prese (Pressure gage, Shimadzu). Apsorpcioni spektri su snimljeni na FT-IC spektrometru (BOMEM Michelfan MB-102) u oblasti talasnih brojeva od 4000 – 500 cm^{-1}.

3.4.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologija sintetisanih hidrogelova kao i uticaj ugrađene aktivne supstance na njihovu morfologiju ispitivani su skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM). Ispitivanja su izvedena na skenirajućem elektronskom mikroskopu 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. Tako tretirani uzorci su zatim polomljeni 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.

3.4.4. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC)

Termička svojstva sintetisanih hidrogelova kao i uticaj sastava hidrogela i ugrađene aktivne supstance na termička svojstva, 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 u trajanju od 24 h na 40 °C. DSC krive su snimljene u atmosferi azota (protok 50 ml min^{-1}) 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 (fazne transformacije) dobijene DSC krive.

3.4.5. Ispitivanje naelektrisanja površine hidrogelova (PZC)

Ispitivanje naelektrisanja površine čistih hidrogelova kao i hidrogelova sa ugrađenom aktivnom supstancom izvedeno je metodom određivanja tačke nultog naelektrisanja (pH_{PZC}) površine hidrogela [175]. Određivanje pH_{PZC} je izvršeno tako što je u erlenmajere od 100 ml dodato po 40 ml rastvora 0,1 M KNO_3 čija je početna vrednost pH (pH_0) podešena između 2,0 i 12,0 dodatkom 0,1 M HNO_3 ili 0,1 M NaOH. Suvi hidrogelovi su potopljeni u pripremljene rastvore, erlenmajeri su zatvoreni i obezbeđeno je mešanje na magnetnoj mešalici (brzinom 50±1 rmp) u periodu od 48 h kako bi hidrogelovi dostigli ravnotežno stanje. Nakon toga, uzorci su izvađeni i izmerena je krajnja pH vrednost rastvora (pH_k). Grafički je prikazana zavisnost razlike između početne i krajnje pH vrednosti rastvora ($\Delta pH=pH_0 - pH_k$) (y-osa) i početne vrednosti pH rastvora (pH_0) (x-osa). Tačka preseka dobijene krive i x-ose predstavlja tačku nultog naelektrisanja ispitivanog uzorka (pH_{PZC}) i to je vrednost pH na kojoj je količina pozitivnog naelektrisanja jednaka količini negativnog naelektrisanja na površini uzorka. U zavisnosti od pH vrednosti okolnog medijuma, naelektrisanje površine uzorka će imati negativnu vrednost kada je $pH>pH_{PZC}$, pozitivnu vrednost kada je $pH<pH_{PZC}$, dok je na vrednosti $pH=pH_{PZC}$ površina uzorka neutralna, odnosno količine pozitivnog i negativnog naelektrisanja su izjednačene [176].

3.5. *In vitro* ispitivanje otpuštanja oksaprozina i njegovih derivata

In vitro ispitivanje otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova izvedeno je u aparaturi sa rotirajućom korpicom u medijumima različitih pH vrednosti (pH 2,20 i 7,40), kako bi se ispitalo pH-zavisno otpuštanje. Diskovi hidrogelova sa ugrađenom aktivnom supstancom su postavljeni u rotirajuće korpice i potopljeni u 10 ml medijuma za otpuštanje. Kao medijumi za otpuštanje oksaprozina korišćeni su pufer pH 2,20 (simulira uslove u želucu) i pufer pH 7,40 (fiziološka pH, simulira pH uslove u donjem delu gastrointestinalnog trakta), dok je otpuštanje derivata oksaprozina praćeno u puferu pH vrednosti 2,20 i smeši dimetilsulfoksid/pufer pH vrednosti 7,40, na 37 °C. Brzina rotiranja korpice je 50 ± 1 rpm. Količina otpuštene aktivne supstance je izmerena upotrebom UV-Vis spektrofotometra (Shimadzu UV/Vis Spectrophotometer UV-1800) merenjem apsorbance medijuma za otpuštanje u određenim vremenskim intervalima, na talasnoj dužini 284 nm, koja je karakteristična za oksaprozin i njegove derivate. Koncentracija otpuštene aktivne supstance je izračunata upotrebom kalibracione krive dobijene merenjem apsorbance rastvora aktivne supstance poznatih koncentracija. Svi eksperimenti otpuštanja su urađeni u triplikatu.

3.5.1. Primena različitih modela na podatke dobijene otpuštanjem aktivnih supstanci iz sintetisanih hidrogelova

U cilju analiziranja procesa otpuštanja aktivne supstance, eksperimentalno dobijeni podaci otpuštanja prvih 60 % aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova, analizirani su primenom: Higuči, Ritger-Pepas, Pepas-Sahlin i Pepas-Sahlin (*m=0,5)* modela. Korišćeni modeli su prikazani u Tabeli 3.

Tabela 3. Higuči, Ritger-Pepas, Pepas-Sahlin i Pepas-Sahlin (m=0,5) modeli korišćeni za analizu mehanizma transporta molekula aktivne supstance za PHEA, P(HEA/IK), PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove.

Model	Jednačina	Parametri
1. Higuči model – opisuje Fikovu difuziju aktivne supstance [177]:	$f = k_H t^{1/2}$ (12)	gde je f frakcija otpuštene aktivne supstance, k_H je kinetička konstanta i t je vremenski period otpuštanja.
2. Ritger-Pepas model	$f = k_1 t^n$ (13)	gde je f frakcija otpuštene aktivne supstance, k_1 je kinetička konstanta, t je vremenski period otpuštanja i n je difuzioni eksponent.
3. Pepas-Sahlin model, uključuje i Fikovu difuziju i Slučaj II transporta [178]:	$f = k_1 t^m + k_2 t^{2m}$ (14)	Prvi deo ove jednačine se odnosi na Fikovu difuziju, dok se drugi deo odnosi na relaksaciju polimernih lanaca kao mehanizme transporta aktivne supstance.
4. Pepas-Sahlin model gde je m=0,5	$f = k_1 t^{1/2} + k_2 t$ (15)	gde je f frakcija otpuštene aktivne supstance, k_1 i k_2 su kinetičke konstante, t je vreme otpuštanja.

Na osnovu izračunatih vrednosti parametara k_1 i k_2, dobijenih primenom jednačine 14 na eksperimentalne podatke ispitivanja otpuštanja aktivnih supstanci iz sintetisanih hidrogelova, izračunat je odnos relaksacije (R) i Fikovog doprinosa (F) primenom sledeće formule:

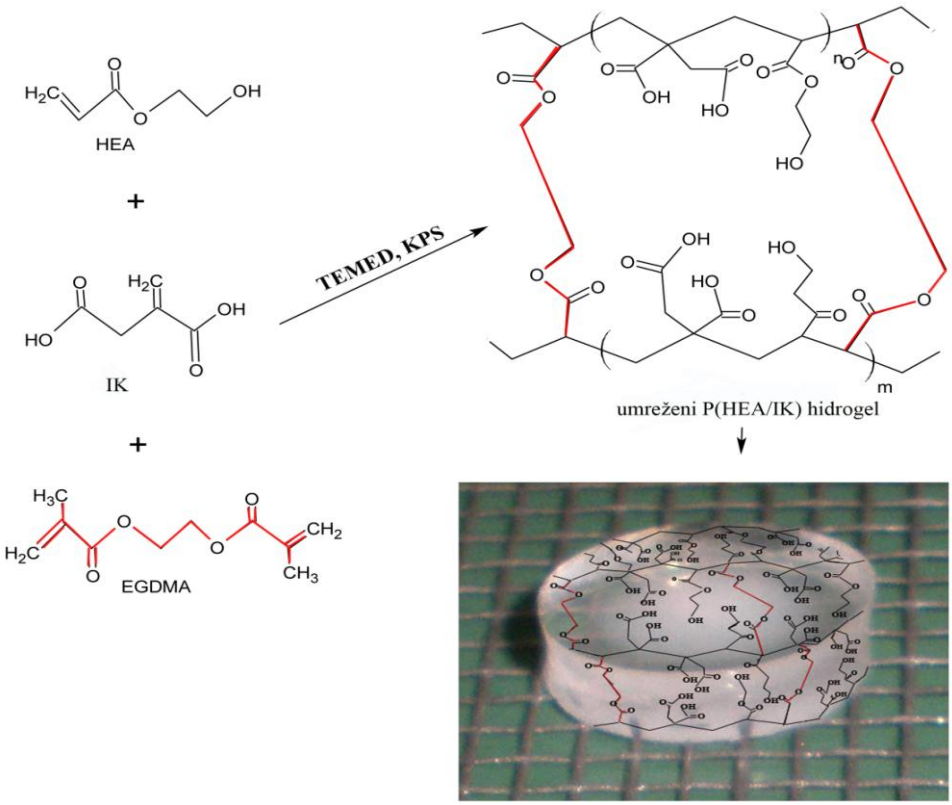
$$\frac{R}{F} = \frac{k_2}{k_1} \times t^{1/2} \qquad (16)$$

Eksperimentalni podaci su analizirani nelinearnom regresijom metodom najmanjih kvadrata. Suma najmanjih kvadrata (Sum of the squered 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 opisuje mehanizam otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova [179].

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje oksaprozina

Serija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline uspešno je sintetisana polimerizacijom preko slobodnih radikala na 50 °C, tokom 24 h (Shema 4). Monomer 2-hidroksietil akrilat je izabran kao strukturni analog detaljno ispitanog i opsežno primenjivanog (posebno u biomedicini i farmaciji) monomer - 2-hidroksietil metakrilat-a. U cilju ispitivanja uticaja sastava hidrogelova na njihovu morfologiju, termička svojstva, ponašenje pri bubrenju i otpuštanju aktivne supstance, udeo itakonske kiseline u sintetisanim hidrogelovima je variran.



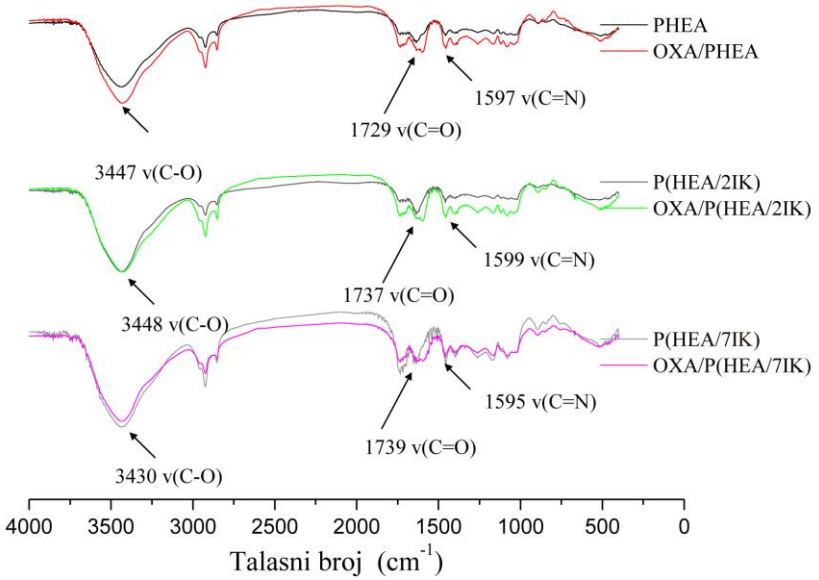
Shema 4. Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline.

Nezasićena dvostruka veza u molekulu itakonske kiseline omogućava izvođenje reakcije polimerizacije, a dve karboksilne grupe omogućavaju reakcije esterifikacije. Prisustvo karboksilnih grupa u polimernom materijalu utiče na hidrofilnost i pH-osetljivost materijala. Ova svojstva čine itakonsku kiselinu i njene derivate atraktivnim

komponentama u brojnim naučnim istraživanjima iz oblasti sinteze novih funkcionalnih materijala. Pored toga, na značajnu atraktivnost itakonske kiseline utiče i njeno industrijsko dobijanje bazirano na procesu fermentacije skroba ili melase, delovanjem gljivica *Aspergillus terreus* ili *Aspergillus itaconicus*. Zahvaljujući jedinstvenim svojstvima itakonska kiselina i njeni derivati imaju široku primenu u proizvodnji lekova, insekticida, površinski aktivnih materija, sintetičkih vlakana, sredstava za plastifikovanje itd.

4.1.1. Strukturna svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

FT-IC spektroskopska analiza je korišćena kako bi se utvrdila hemijska struktura sintetisanih hidrogelova, kao i priroda formiranih veza. Ugradnja aktivne supstance - oksaprozin, je takođe analizirana FT-IC spektroskopijom. Dobijeni FT-IC spektri PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova, kao i PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su prikazani na Slici 35.



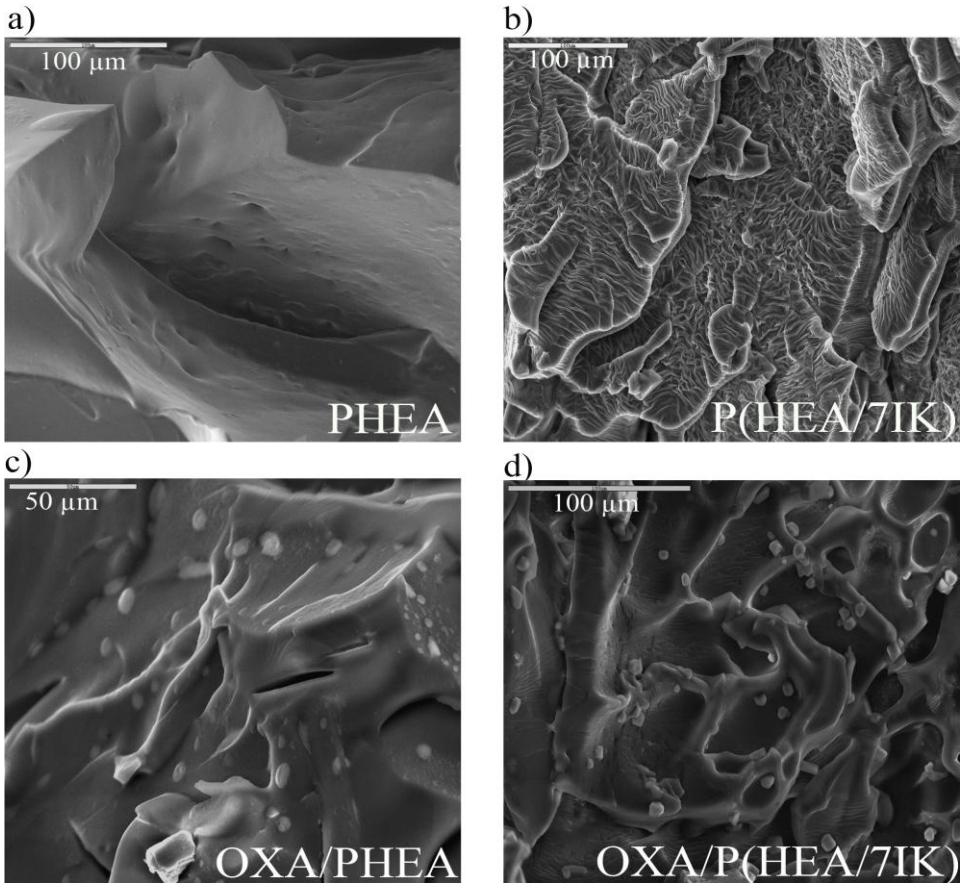
Slika 35. FT-IC spektri PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova i PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

FT-IC spektar PHEA hidrogela pokazuje sledeće karakteristične pikove: pik –OH grupe na 3447 cm^{-1}, pik na 1729 cm^{-1} ukazuje na vibracije karbonilne C=O grupe i pik za alifatične C–H vibracije u opsegu od 3000 – 2900 cm^{-1}. Intezivniji pikovi C=O grupe na talasnom broju 1737 cm^{-1} prikazani na spektrima P(HEA/2IK) i OXA/P(HEA/2IK), kao i na 1739 cm^{-1} na spektrima P(HEA/7IK) i OXA/P(HEA/7IK)

hidrogelova potiču od vibracija dodatnih C=O grupa itakonske kiseline i oksaprozina. FT-IC spektri P(HEA/2IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova pokazuju široku apsorpcionu traku u oblasti 3700 – 3100 cm^{-1} što odgovara O–H vibracijama karboksilnih grupa itakonske kiseline [180]. Pikovi na 1597, 1599 i 1595 cm^{-1} prikazani na spektrima OXA/PHEA, OXA/P(HEA/2IK) i OXA/P(HEA/7IK) uzoraka potiču od istezanja C=N veze oksaprozina i potvrđuju uspešnu ugradnju oksaprozina u sintetisane PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove [157].

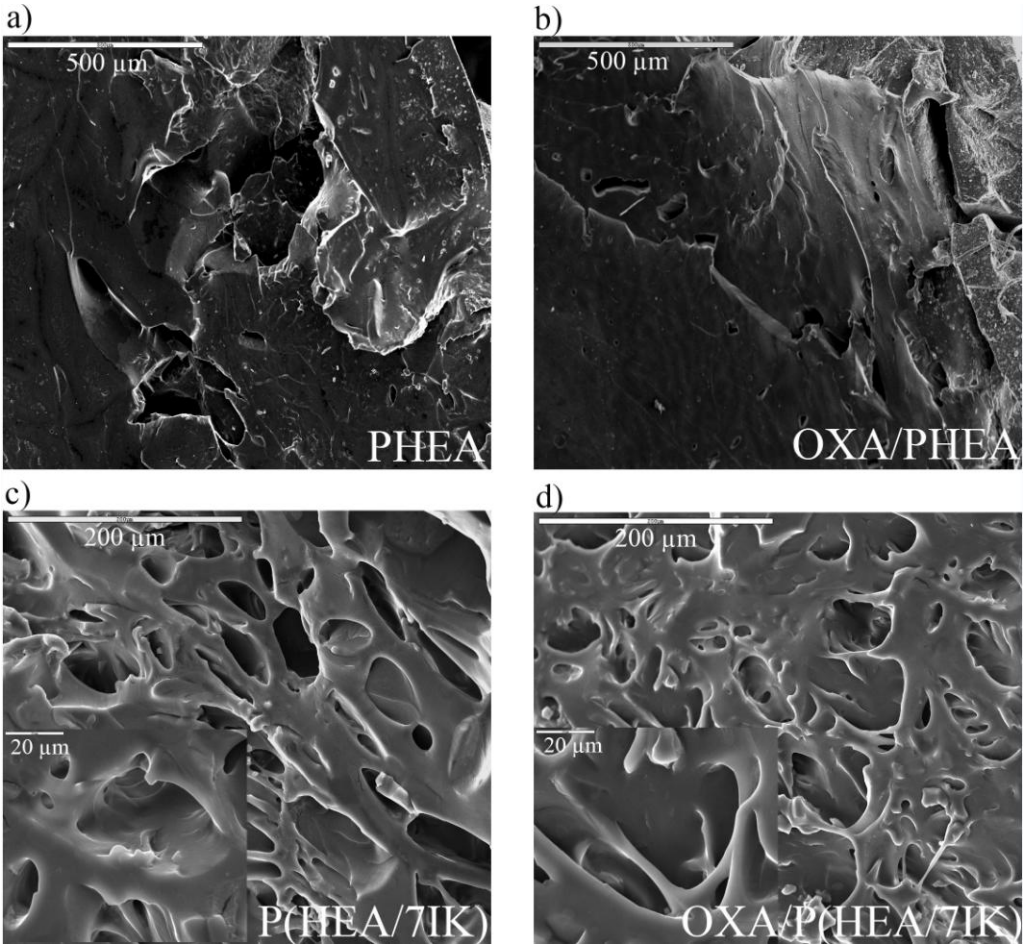
4.1.2. Morfologija PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Morfologija sintetisanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova kao i uticaj ugrađenog oksaprozina na njihovu morfologiju, ispitivani su skenirajućom elektronskom mikroskopijom. U cilju dobijanja jasnije slike o morfologiji ispitivanih uzoraka analizirana je morfologija površine kao i poprečnog preseka uzorka. Dobijeni SEM mikrografi su prikazani na Slikama 36 i 37.



Slika 36. SEM mikrografi površine a) PHEA, b) P(HEA/7IK), c) OXA/PHEA i d) OXA/P(HEA/7IK) hidrogelova.

SEM mikrografi pokazuju da homopolimerni hidrogel (PHEA) (Slika 36 a)) ima kompaktnu, glatku i ravnu površinu dok hidrogelove koji sadrže itakonsku kiselinu (PHEA/7IK) (Slika 36 b)) karakteriše neravna površina, nalik „koralnoj“ teksturi sa mikrokanalima. Ugradnja oksaprozina u P(HEA/7IK) hidrogel rezultira manje naboranom površinom, sa manje izraženim mikrokanalima (Slika 36 d)), što se može objasniti time da adsorbovani molekuli oksaprozina popunjavaju mikrokanale na površini uzorka čineći površinu hidogela glatkijom. Značajnija promena morfologije površine PHEA hidrogela nakon ugradnje oksaprozina nije izražena (Slika 36 c)).



Slika 37. SEM mikrografi poprečnog preseka a) PHEA, b) OXA/PHEA, c) P(HEA/7IK) i d) OXA/P(HEA/7IK) hidrogelova.

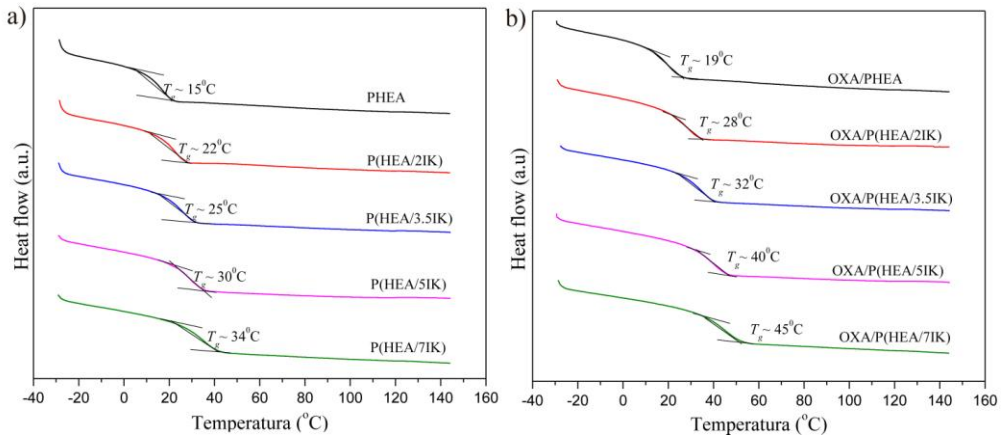
SEM mikrografi poprečnog preseka PHEA i P(HEA/7IK) hidrogelova (Slika 37 a) i c)) pokazuju da su uzorci sa većim sadržajem itakonske kiseline porozniji, sa jasnim, heterogeno raspoređenim porama. Ugradnja oksaprozina u PHEA i P(HEA/7IK)

hidrogelove neznatno menja morfologiju u manje poroznu, usled popunjavanja pora polimerne mreže molekulima oksaprozina (Slika 37 b) i d)).

Prikazani rezultati SEM analize ispitivanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova pokazuju da sastav hidrogela kao i ugradnja aktivne supstance utiču na morfologiju hidrogelova. Dodatak itakonske kiseline povećava poroznost hidrogela, dok ugradnja aktivne supstance u hidrogel neznatno smanjuje njegovu poroznost usled popunjavanja pora. Uticaj ugradnje oksaprozina na morfologiju izraženiji je kod hidrogelova koji sadrže itakonsku kiselinu u poređenju sa homopolimernim hidrogelom.

4.1.3. Termička svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Termička svojstva sintetisanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova, kao i PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su ispitana upotrebom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC). Dobijene DSC krive i T_g vrednosti PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova i PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, prikazani su na Slici 38 a) i b). T_g vrednost PHEA dostupna u literaturi je niska i kreće se u opsegu od –10 do 7 °C, usled čega je PHEA na sobnoj temperaturi u gumolikom stanju i pokazuje elastična svojstva [181-183]. T_g vrednost poli(itakonske kiseline) (PIK) nije moguće odrediti jer dolazi do degradacije PIK, što je praćeno pojavom širokih pikova na DSC termogramu [184].



Slika 38. DSC termogrami i T_g vrednosti a) PHEA i P(HEA/IK) i b) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

Kao što je prikazano na Slici 38 a) i b) svi uzorci jasno pokazuju jednu T_g vrednost što ukazuje na uspešnu kopolimerizaciju P(HEA/IK). Dobijene T_g vrednosti

PHEA, P(HEA/2IK), P(HEA/3.5IK), P/HEA/5IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova iznose: 15, 22, 25, 30 i 34 °C. Uzorci sa ugrađenim oksaprozinom (OXA/PHEA, OXA/P(HEA/2IK), OXA/P(HEA/3.5IK), OXA/P(HEA/5IK) i OXA/P(HEA/7IK)) pokazuju sledeće T_g vrednosti: 20, 28, 32, 40 i 45 °C. Dobijeni rezultati DSC analize ukazuju na značajan uticaj sastava hidrogelova i prisustva aktivne supstance na njihovu T_g vrednost. Povećanje udela IK u kopolimenoj strukturi dovodi do povećanja T_g vrednosti kopolimera. Ovakav uticaj IK na T_g vrednost kopolimera može se objasniti time da polarne grupe, kao što je u ovom slučaju karboksilna grupa itakonske kiseline, povećavaju mogućnost uspostavljanja interakcija između makromolekula kao i stvaranja intramolekulskih vodoničnih veza koje deluju kao dodatna umreženja u polimernoj mreži. Povećanje umreženja u polimernoj mreži rezultira povećanjem T_g vrednosti polimera.

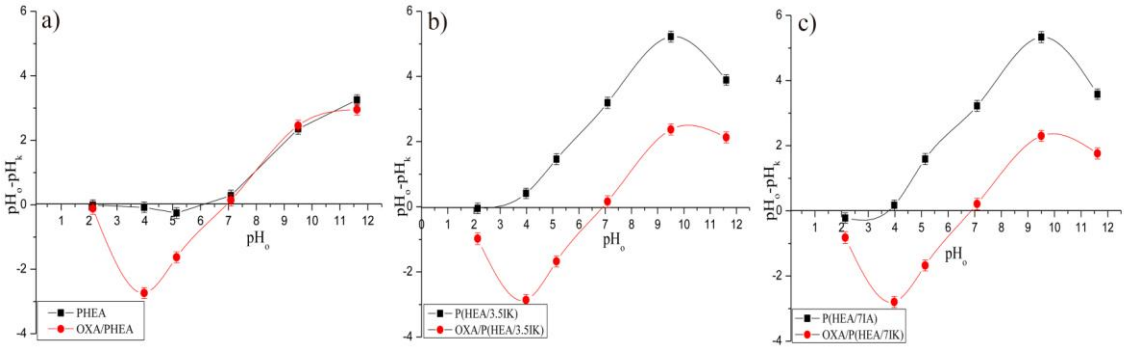
Rezultati DSC analize hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju da oksaprozin povećava T_g vrednosti gelova. Pokretljivost polimernih lanaca je bitan faktor koji utiče na T_g vrednost i što je pokretljivost veća to su vrednosti T_g niže. Svako dodatno ometanje pokretljivosti polimernih lanaca dovodi do povećanja T_g vrednosti polimera. Uzorci sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju veće vrednosti T_g u poređenju sa uzorcima koji ne sadrže aktivnu supstancu što se može objasniti time da molekuli oksaprozina popunjavaju pore, smanjuju slobodnu zapreminu u polimernoj mreži i ometaju pokretljivost polimernih lanaca.

4.1.4. Analiza naelektrisanja površine PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Određivanje naelektrisanja površine hidrogelova je posebno važno za njihovu primenu u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci ne samo zbog efikasnosti ugradnje i kinetike otpuštanja aktivne supstance već i zbog adsorpcije ovih sistema na ćelijskim membranama. Negativno naelektrisanje površine polimera je jedno od poželjnih svojstava za postizanje bolje mukoadhezivnosti, što je posebno važno u sistemima za ciljano otpuštanje aktivnih supstanci. Adekvatno naelektrisanje površine hidrogela može značajno da poboljša svojstva otpuštanja, redukuje neželjene efekte i poveća efikasnost farmakoterapije i komplijanse kod pacijenata [185].

Tačka nultog naelektrisanja (pH_{PZC}) površine hidrogela je pH vrednost na kojoj su količine pozitivnog i negativnog naelektrisanja na površini hidrogela izjednačene. U

zavisnosti od pH vrednosti okolnog medijuma, površina hidrogela će biti negativno naelektrisana na svim vrednostima pH>pH_{PZC}, pozitivno naelektrisana na vrednostima pH<pH_{PZC} i neutralna na pH= pH_{PZC} [175]. Zavisnost ΔpH u funkciji pH_0 u 0,1M KNO_3 rastvoru je prikazana na Slici 39 za a) PHEA, b) P(HEA/3.5IK) i c) P(HEA/7IK) hidrogelove, bez i sa ugrađenim oksaprozinom.



Slika 39. Zavisnost ΔpH u funkciji pH_0 u 0,1M KNO_3 rastvoru za čiste i oksaprozinom ugrađene a) PHEA, b) P(HEA/3.5IK) i c) P(HEA/7IK) hidrogelove.

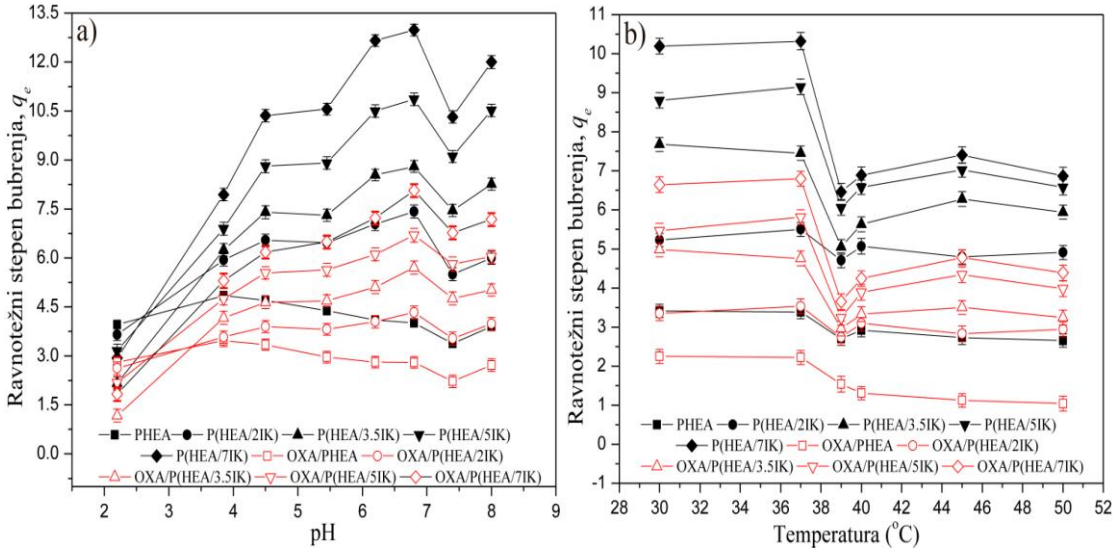
Naelektrisanje površine PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova je pH-zavisno usled postojanja jonskih grupa koje jonizuju u zavisnosti od pH vrednosti okolnog medijuma. Kao što je i očekivano, izmerene vrednosti pH_{PZC} zavise od sastava hidrogela. Hidrogelovi sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju slične vrednosti pH_{PZC} i svi uzorci imaju neutralnu površinu na pH vrednosti oko 7,00. Rezultati PZC analize pokazuju da ugrađen oksaprozin ne menja naelektrisanje površine PHEA hidrogelova, ali značajno menja naelektrisanje površine hidrogelova koji sadrže itakonsku kiselinu. Adsorpcija molekula oksaprozina na P(HEA/3.5IK) i P(HEA/7IK) hidrogelovima povećava količinu negativnog naelektrisanja na njihovoj površini što rezultira višim pH_{PZC} vrednostima. Ovakavi rezultati su u saglasnosti sa činjenicom da sorpcija/adsorpcija anjona pomera pH_{PZC} vrednosti ka višim pH vrednostima [186].

4.1.5. Bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Kapacitet bubrenja je veoma važno svojstvo „inteligentnih“ hidrogelova za njihovu primenu u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci i predstavlja ključni parametar za dizajniranje željenih profila otpuštanja [187].

4.1.5.1. pH- i temperaturno osetljivo bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

U cilju ispitivanja „inteligentnog“ ponašanja sintetisanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova, ispitivana su njihova svojstva bubrenja u puferima fiziološkog opsega pH vrednosti (od pH 2,20 do 8,00), na temperaturi od 37 °C, kao i u temperaturnom opsegu od 30 do 50 °C, u puferu pH vrednosti 7,40. Na Slici 40 prikazan je ravnotežni stepen bubrenja (q_e) čistih i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u funkciji a) pH vrednosti i b) temperature.



Slika 40. Ravnotežni stepen bubrenja (q_e) čistih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova i PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u funkciji a) pH vrednosti i b) temperature.

Rezultati prikazani na Slici 40 a) pokazuju da su P(HEA/IK) hidrogelovi pH-osetljivi. Vrednosti q_e prikazane u funkciji od pH pokazuju sličan trend za sve uzorke. Na pH vrednostima ispod pK_a vrednosti karboksilnih grupa itakonske kiseline (pK_{a1}=3,85 i pK_{a2}=5,45) vrednosti q_e su niže u slučaju svih ispitivanih hidrogelova. Niske vrednosti q_e u ovom pH intervalu su posledica stvaranja intramolekulskih vodoničnih veza preko karboksilnih grupa itakonske kiseline, što rezultira nastankom kompaktne polimerne strukture koju karakteriše manji kapacitet bubrenja. U slučaju kada su pH vrednosti okolnog medijuma veće od pK_a vrednosti karboksilnih grupa itakonske kiseline, sile elektrostatičkog odbijanja između nastalih jonizovanih karboksilnih grupa postaju dominantne, dovode do širenje polimerne mreže i kao posledicu imaju veće vrednosti q_e. PHEA hidrogelovi ne pokazuju pH- osetljivost jer je

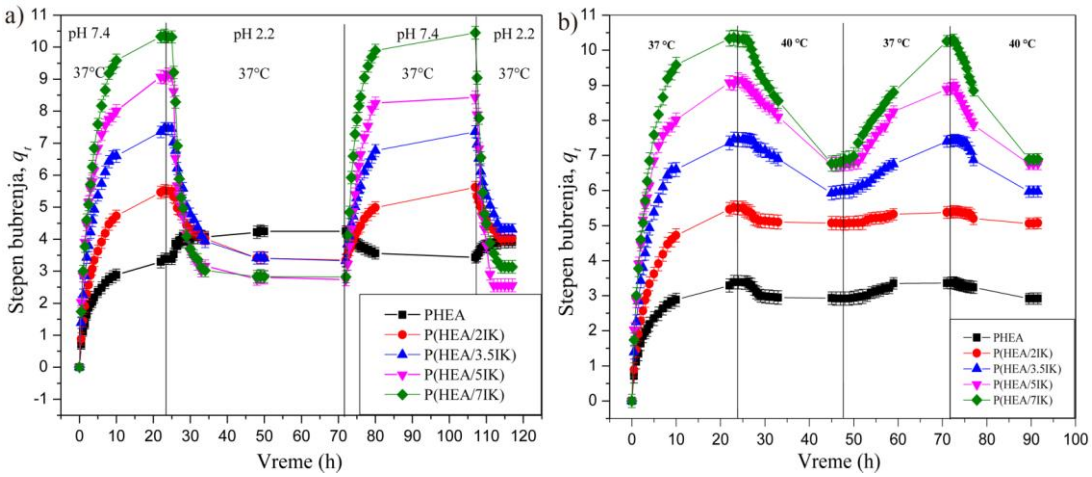
HEA monomer neutralan. Hidrogelovi sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju niže vrednosti q_e u poređenju sa odgovarajućim hidrogelovima bez aktivne supstance. Ovakvo ponašanje se može objasniti time što molekuli oksaprozina zauzimaju pore hidrogelova i smanjuju slobodnu zapreminu u polimernoj mreži što rezultira nižim vrednostima q_e hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

Temperaturna osetljivost sintetisanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova kao i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom ispitivana je praćenjem bubrenja na različitim temperaturama (Slika 40 b)). Oštar pad vrednosti q_e izražen u temperaturnom opsegu od 37 do 40 °C ukazuje na temperaturnu osetljivost P(HEA/IK) hidrogelova. VPTT P(HEA/IK) hidrogelova je ~39 °C, što je posebno značajno za njihovu primenu, s obzirom da ta vrednost pripada opsegu fiziološke temperature. Vrednosti q_e P(HEA/IK) hidrogelova su veće na temperaturama nižim od VPTT, a na višim temperaturama P(HEA/IK) hidrogelovi bubre manje. Na temperaturama nižim od VPTT uspostavljaju se jake vodonične veze između hidrofilnih grupa polimera i molekula vode što dovodi do širenja polimerne mreže i većih vrednosti q_e. Na temperaturama višim od VPTT, intramolekulske interakcije (polimer-polimer i/ili voda-voda) postaju znatno dominantnije u odnosu na intermolekulske (polimer-voda) interakcije pa se manja količina vode zadržava u polimernoj mreži. Uspostavljanjem intramolekulskih interakcija dolazi do smanjenja hidrofilnosti polimerne mreže što rezultira manjim kapacitetom bubrenja hidrogelova, odnosno manjim vrednostima q_e.

Rezultati ispitivanja bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova ukazuju na pH i temperaturnu osetljivost P(HEA/IK) hidrogelova. Takođe, rezultati pokazuju da ugrađen oksaprozin ne utiče na pH- i temperaturnu osetljivost P(HEA/IK) hidrogelova, ali smanjuje njihove q_e vrednosti.

4.1.5.2. Reverzibilno ponašanje pri bubrenju PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Reverzibilno ponašanje sintetisanih hidrogelova prilikom bubrenja je ispitivano u variranim uslovima pH i temperature, u dva ciklusa. Reverzibilno ponašanje i brzina odgovora hidrogelova na promenu stimulansa je posebno važno svojstvo za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci povratnim mehanizmom [188]. Rezultati ispitivanja reverzibilnog ponašanja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova pri bubrenju u variranim uslovima pH i temperature su prikazani na Slici 41 a) i b).



Slika 41. Reverzibilno ponašanje pri bubrenju PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u variranim uslovima a) pH vrednosti i b) temperature.

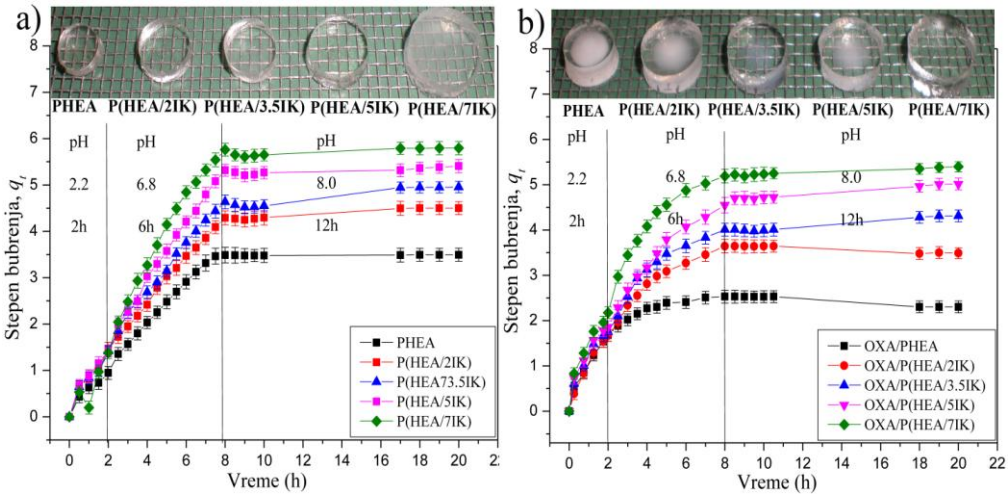
Kao što je prikazano na Slici 41 a) i b) P(HEA/IK) hidrogelove karakteriše reverzibilno ponašanje pri bubrenju. Brzina bubrenja ispitivanih hidrogelova je manja od brzine kontrahovanja usled toga što molekuli fluida lakše izlaze iz nabubrele polimerne mreže, dok je penetracija molekula fluida u kontrahovanu polimernu mrežu otežana kontrahovanim polimernim lancima i porama. Rezultati takođe pokazuju da dodatak IK poboljšava pH- i temperaturno reverzibilno ponašanje hidrogelova pri bubrenju. Hidrogel sa najvećim udelom IK (P(HEA/7IK)) je pokazao najbolja pH reverzibilna svojstva i relativno brz odgovor na promenu pH vrednosti.

U slučaju variranja temperature (Slika 41 b)) P(HEA/IK) hidrogelovi su takođe pokazali reverzibilno ponašanje pri bubrenju i relativno brz odgovor na promenu stimulansa. Dobijeni profili zavisnosti vrednosti stepena bubrenja (q_t) od temperature su simetričnog oblika što pokazuje da je brzina bubrenja u ovim uslovima slična brzini kontrahovanja hidrogelova. Ovakvo ponašanje može biti posledica male razlike u vrednostima q_e ispitivanih hidrogelova na temperaturama 37 i 40 °C, pa je u tom slučaju brzina difuzije molekula vode iz polimerne mreže slična brzini penetriranja molekula vode u kontrahovanu polimernu mrežu.

4.1.5.3. Bubrenje PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta

Rezultati ispitivanja bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova, kao i odgovarajućih hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u simuliranim pH uslovima

gastrointestinalnog trakta prikazani su na Slici 42 a) i b). Fotografije PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su takođe prikazane na Slici 42 a) i b).



Slika 42. Bubrenje a) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova i b) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta.

Kao što je prikazano na Slici 42 a) i b) stepen bubrenja hidrogelova (q_t) dostiže niske vrednosti u medijumu pH 2,20 dok je značajniji porast vrednosti q_t postignut kada su uzorci prebačeni u medijume pH vrednosti 6,80 i 8,00. Hidrogelovi sa ugrađenim oksaprozinom sporije bubre u poređenju sa odgovarajućim hidrogelovima koji ne sadrže aktivnu supstancu. Razlog sporijeg bubrenja hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom može biti istovremena difuzija molekula oksaprozina kroz polimernu mrežu ka spoljašnjem medijumu (izazvana koncentracionim gradijentom) i difuzija molekula vode u polimernu mrežu. Mali kapacitet bubrenja P(HEA/IK) hidrogelova u kiseloj pH sredini i velike vrednosti q_t u neutralnoj do slabo baznoj sredini, čine ispitivane hidrogelove odličnim kandidatima za dizajniranje sistema za otpuštanje aktivne supstance u donjem delu gastrointestinalnog trakta. Ovi sistemi su naročito pogodni kao nosači aktivnih supstanci koje su nestabilne u agresivnim uslovima želuca ili koje ispoljavaju neželjene efekte na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta.

4.1.5.4. Kinetika bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e), difuzionog eksponenta (n), kinetičke konstante (k) i koeficijenta difuzije fluida (D) čistih PHEA i P(HEA/IK) i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, izračunate na osnovu podataka dobijenih bubrenjem u puferu pH vrednosti 7,40 na 37 °C, prikazane su u Tabeli 4.

Tabela 4. Vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e), difuzionog eksponenta (n), kinetičke konstante (k) i koeficijenta difuzije fluida (D) čistih PHEA i P(HEA/IK) i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

Uzorak	q_e		n		k (s^{-1})		D x 10^7 ($cm^2 s^{-1}$)	
	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA
PHEA	3,38	2,22	0,49	0,48	0,33	0,44	1,37	1,32
P(HEA/2IK)	5,50	3,53	0,48	0,49	0,30	0,51	1,47	1,41
P(HEA/3.5IK)	7,45	4,76	0,49	0,45	0,33	0,52	1,53	1,48
P(HEA/5IK)	9,11	5,81	0,58	0,67	0,32	0,40	1,91	1,88
P(HEA/7IK)	10,32	6,77	0,64	0,67	0,28	0,44	1,92	1,89

Mehanizam difuzije molekula fluida kroz polimernu mrežu se može objasniti na osnovu izračunatih vrednosti parametra n. Dobijene vrednosti parametra n za ispitivane hidrogelove ukazuju da je mehanizam transporta molekula fluida Fikova difuzija u slučaju PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/3.5IK) hidrogelova i PHEA, P(HEA/2IK) i P(HEA/3.5IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom. Mehanizam transporta fluida je ne-Fikova difuzija u slučaju P(HEA/5IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova i P(HEA/5IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom. To znači da i difuzija i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu transport molekula fluida kroz polimernu mrežu P(HEA/5IK) i P(HEA/7IK) hidrogelova. Izračunate vrednosti koeficijenta difuzije fluida ukazuju na zavisnost vrednosti ovog parametra od sastava hidogela. Povećanje sadržaja IK rezultira većim vrednostima D, dok prisustvo oksaprozina smanjuje vrednosti D što je u saglasnosti sa svojstvima bubrenja hidrogelova diskutovanih u poglavlju 4.1.5.1. ovog rada.

4.1.5.5. Parametri mreže PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

Molska masa polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja ($\overline{M}_c$) i veličina pora (ξ) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova, izračunati su primenom teorije ravnotežnog bubrenja upotrebom jednačina (2) i (4). Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 5.

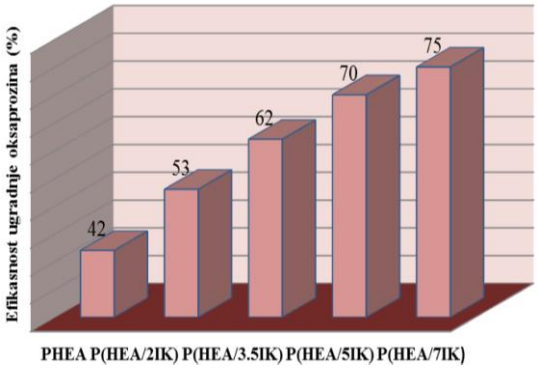
Tabela 5. Vrednosti ravnotežnog stepena umreženja (q_e), molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja ($\overline{M}_c$) i veličine pora (ξ) čistih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, u puferu pH vrednosti 7,40, na 37 °C.

Uzorak	q_e		$\overline{M}_c$ **(g mol^{-1})**		ξ **(nm)**	
	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA
PHEA	3,38	2,22	5895,4	2152,2	7,146	4,317
P(HEA/2IK)	5,50	3,53	16838,9	5806,6	13,47	7,913
P(HEA/3.5IK)	7,45	4,76	35635,5	11727,0	21,15	12,13
P(HEA/5IK)	9,11	5,81	58336,4	18949,4	28,54	16,26
P(HEA/7IK)	10,32	6,77	77920,1	27448,3	34,10	20,24

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u Tabeli 5, jasno se uočava uticaj sastava hidrogela, kao i prisustva aktivne supstance na vrednosti parametara mreže. Povećanje sadržaja IK u polimernoj strukturi rezultira većim vrednostima molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja i porama većih dimenzija. Uzorke sa ugrađenom aktivnom supstancom karakterišu manje molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja i pore manjih dimenzija u poređenju sa odgovarajućim uzorcima koji ne sadrže aktivnu supstancu. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima bubrenja (poglavlje 4.1.5. ovog rada), kao i rezultatima SEM analize (poglavlje 4.1.2. ovog rada). Povećanje sadržaja IK u polimeru dovodi do povećanja veličina pora u polimernoj strukturi, dok ugradjena aktivna supstanca popunjava pore i na taj način redukuje poroznost ispitivanih hidrogelova.

4.1.6. Efikasnost ugradnje oksaprozina u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove

Rezultati efikasnosti ugradnje (E %) oksaprozina u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove prikazani su na Slici 43.



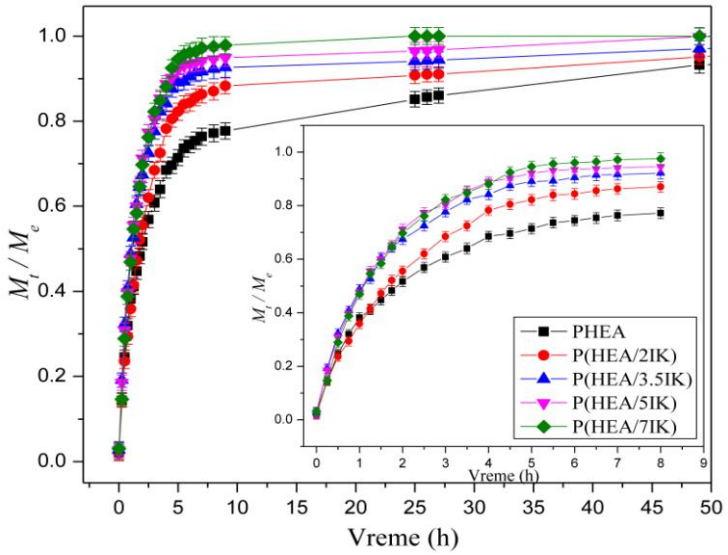
Slika 43. Efikasnost ugradnje (E %) oksaprozina u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove.

Najmanja efikasnost ugradnje oksaprozina je ostvarena sa PHEA hidrogelom. PHEA hidrogel je sposoban da apsorbuje najmanju količinu oksaprozina usled malog kapaciteta bubrenja u poređenju sa hidrogelovima koji sadrže IK. Povećanjem udela IK u hidrogelu povećava se i kapacitet bubrenja, kao i sposobnost apsorpcije veće količine oksaprozina. U slučaju hidrogelova sa većim vrednostima q_e, difuzija molekula oksaprozina kroz polimernu mrežu je olakšana što rezultira efikasnijom ugradnjom oksaprozina u uzorke sa većim sadržajem IK. Najveća efikasnost ugradnje oksaprozina (75 %) postignuta je u slučaju hidrogela sa najvećim udelom IK (P(HEA/7IK). Dobijeni rezultati pokazuju da se hidrofobna aktivna supstanca - oksaprozin može uspešno ugraditi u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove i da se na efikasnost ugradnje aktivne supstance može uticati podešavanjem kapaciteta bubrenja, odnosno promenom sastava hidrogela (u ovom slučaju variranjem udela IK).

4.1.7. In vitro otpuštanje oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

In vitro ispitivanje otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova izvedeno je u medijumima različitih pH vrednosti (pH 2,20 i pH 7,40), na 37 °C. Prilikom ispitivanja otpuštanja oksaprozina u puferu pH vrednosti 2,20, u medijumu za otpuštanje nije detektovano prisustvo oksaprozina ni nakon 48 h praćenja otpuštanja oksaprozina. Mali kapacitet bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u kiseloj sredini, kao i nerastvorljivost oksaprozina, su osnovni razlozi izostanka efekta otpuštanja

oksaprozina u medijumu pH vrednosti 2,20. U puferu pH vrednosti 7,40 došlo je do otpuštanja oksaprozina i dobijeni profili otpuštanja su prikazani na Slici 44.



Slika 44. Profili otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u puferu pH 7,40 na 37 °C.

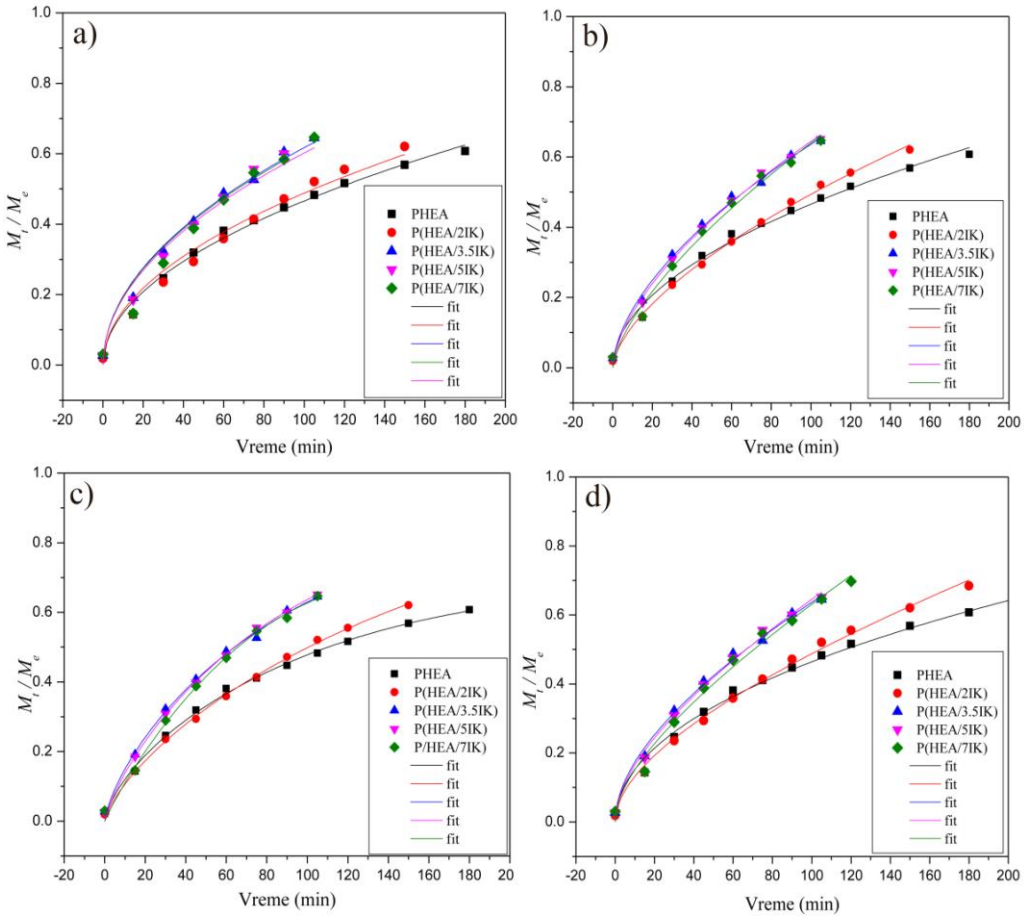
Kao što je prikazano na Slici 44 znatna razlika u profilima otpuštanja oksaprozina je izražena između PHEA i P(HEA/7IK) hidrogelova. Povećanje udela IK u hidrogelovima rezultira bržim otpuštanjem oksaprozina. Ovakvo ponašanje se može objasniti time da je u medijumu pH vrednosti 7,40 došlo do potpune jonizacije molekula oksaprozina (pK_a 4.3) i karboksilnih grupa IK. Elektrostatičko odbijanje između nastalih jonskih grupa rezultira bržim otpuštanjem oksaprozina, te je uzorak sa najvećim udelom IK pokazao najbrže otpuštanje molekula oksaprozina. Takođe, količina ugrađene aktivne supstance može uticati na njen profil otpuštanja [189]. Hidogel sa najvećim sadržajem oksaprozina (PHEA/7IK) najbrže otpušta aktivnu supstancu. Ovakvo ponašanje se može pripisati većem koncentracionom gradijentu u slučaju hidrogela koji sadrži najveću količinu ugrađenog oksaprozina. Što je koncentracioni gradijent između medijuma za otpuštanje i unutrašnjosti polimerne mreže veći to je i otpuštanje oksaprozina brže.

Dobijeni rezultati otpuštanja oksaprozina iz ispitivanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova su pokazali naglo otpuštanje oksaprozina u početnom periodu otpuštanja, takozvani „burst“ efekat, tokom početna 2 h. Nakon tog vremena, uspostavljeno je

ravnomernije i sporije otpuštanje molekula oksaprozina. Pojava „burst“ efekta se može pripisati adsorbovanim molekulima oksaprozina koji se lako otpuštaju sa površine hidrogela.

4.1.8. Analiza procesa kontrolisanog otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova

U cilju analize mehanizma transporta molekula oksaprozina iz sintetisanih PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova, *in vitro* dobijeni podaci otpuštanja 60 % oksaprozina su analizirani primenom različitih jednačina (Jednačine (12-15)). Na Slici 45 a), b), c) i d) su prikazani podaci otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova analizirani jednačinama koje su prikazane u Tabeli 3. Vrednosti izračunatih parametara su prikazani u Tabeli 6.



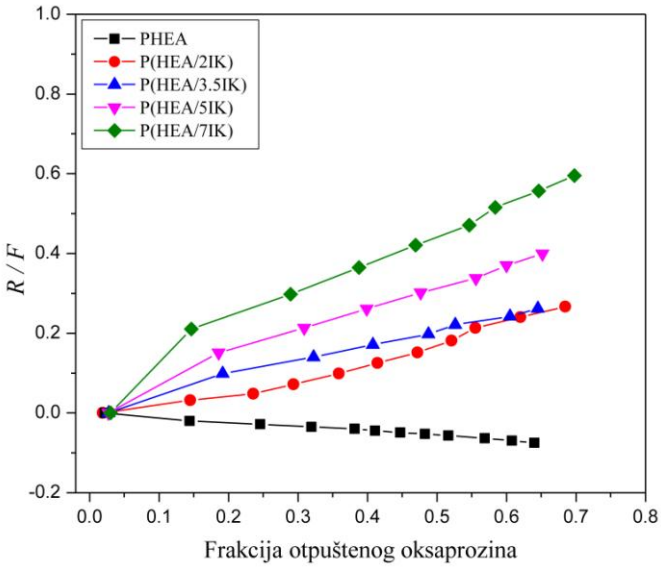
Slika 45. Podaci otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova analizirani a) Higuči, b) Ritger-Pepas, c) Pepas-Sahlin i d) Pepas-Sahlin (*m*=0,5) modelima.

Tabela 6. Parametri otpuštanja oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova dobijeni primenom: Higuči, Ritger-Pepas, Pepas-Sahlin i Pepas-Sahlin (*m=0,5*) modela na eksperimentalno dobijene podatke otpuštanja 60 % oksaprozina u medijumu pH vrednosti 7,40 na 37 °C.

Primenjen model	Izračunati parametri, *SSR*, *AIC* i R^2	Uzorci				
		PHEA	P(HEA/2IK)	P(HEA/3.5IK)	P(HEA/5IK)	P(HEA/7IK)
1.Higuči model	k_H	0,047	0,049	0,062	0,061	0,060
	SSR	0,003	0,006	0,004	0,005	0,012
	AIC	-62	-49	-42	-35	-33
	R^2	0,991	0,981	0,987	0,979	0,964
2.Ritger-Pepas model	k_1	0,045	0,028	0,043	0,038	0,029
	n	0,505	0,619	0,582	0,614	0,670
	SSR	0,003	0,001	0,001	0,001	0,003
	AIC	-60	-66	-47	-48	-42
	R^2	0,990	0,997	0,993	0,995	0,989
3.Pepas-Sahlin model	k_1	0,025	0,020	0,029	0,0236	0,013
	k_2	-0,001	-0,001	-0,001	-0,001	-0,001
	m	0,696	0,737	0,734	0,787	0,930
	SSR	0,001	0,0006	0,001	0,0008	0,001
	AIC	-69	-68	-47	-51	-47
	R^2	0,996	0,998	0,994	0,996	0,994
4.Pepas-Sahlin model gde je *m*=0,5	k_1	0,049	0,038	0,051	0,046	0,041
	k_2	-0,001	0,001	0,001	0,002	0,002
	SSR	0,003	0,002	0,002	0,002	0,004
	AIC	-64	-65	-45	-46	-45
	R^2	0,991	0,995	0,992	0,993	0,988

Analizom vrednosti parametra *AIK* pokazano je da Pepas-Sahlin (Slika 45 c)) model najoptimalnije opisuje fenomen otpuštanja molekula oksaprozina iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova. Mehanizam transporta molekula aktivne supstance kroz polimernu mrežu može se analizirati na osnovu vrednosti parametra *n* izračunatog primenom Ritger-Pepas modela. Dobijene vrednosti *n* (0,50 do 0,67) ukazuju da je mehanizam transporta molekula oksaprozina iz PHEA hidrogela Fikova difuzija, dok u slučaju hidrogelova koji sadrže IK i difuzija i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu transport molekula oksaprozina kroz polimernu mrežu P(HEA/IK) hidrogelova.

Primenom jednačine (16) i izračunatih vrednosti parametra k_1 i k_2 (dobijenih primenom Pepas-Sahlin modela), izračunat je odnos relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*). Zavisnost vrednosti *R/F* odnosa i frakcije otpuštenog oksaprozina je prikazana na Slici 46.



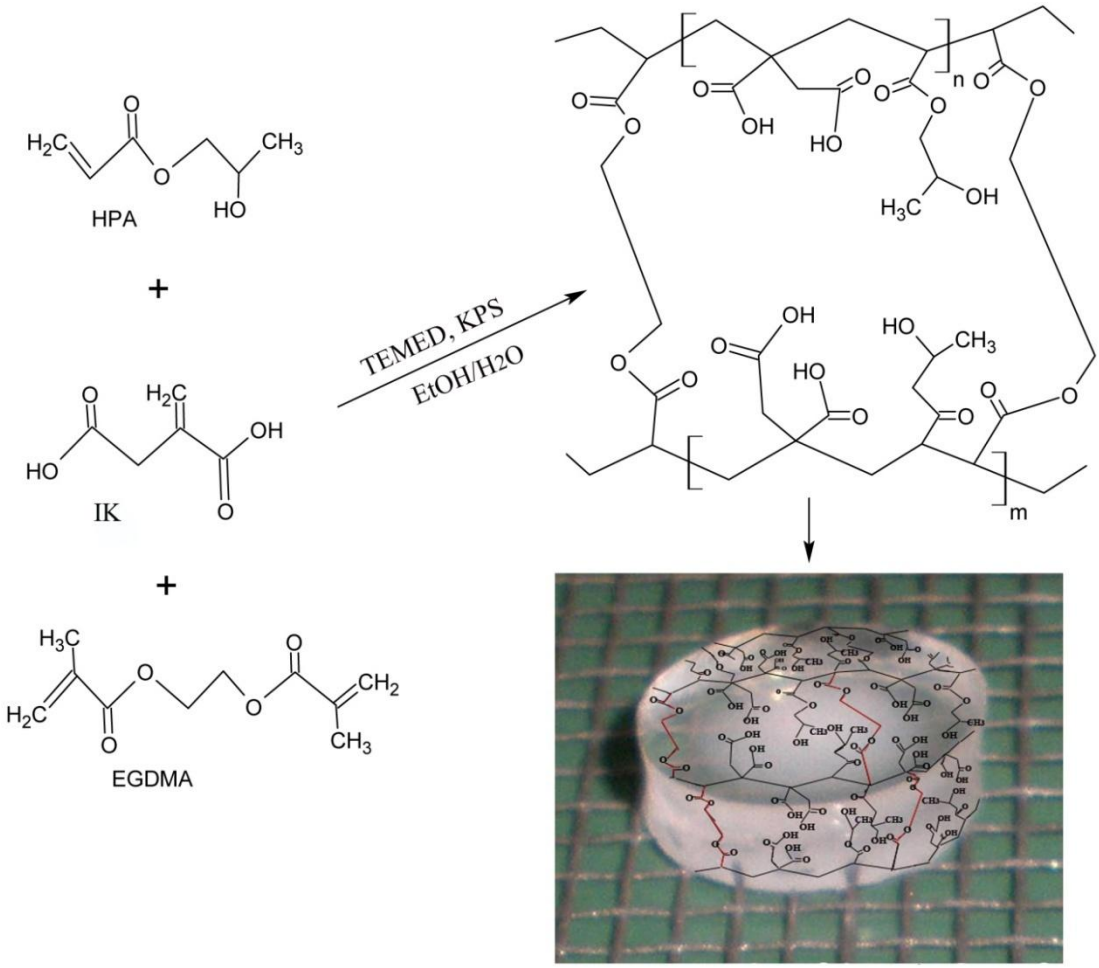
Slika 46. Zavisnost vrednosti odnosa relaksacije lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*) od frakcije otpuštenog oksaprozina.

Dobijeni rezultati prikazani na Slici 46, su dodatna potvrda da je mehanizam transporta molekula oksaprozina Fikova difuzija isključivo u slučaju PHEA hidrogela, u svim ostalim slučajevima mehanizam transporta molekula oksaprozina je kontrolisan i difuzijom i relaksacijom polimernih lanaca.

4.2. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje oksaprozina

Serija hidrogelova na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline uspešno je sintetisana polimerizacijom preko slobodnih radikala na 50 °C, tokom 24 h (Shema 5) [196]. Monomer 2-hidroksipropil akrilat je odabran kao strukturni analog detaljno ispitanog i opsežno primenjivanog (naročito u biomedicini i farmaciji) monomera, 2-hidroksietil metakrilata. U reakcijama kopolimerizacije je korišćena itakonska kiselina zbog značajnog doprinosa hidrofilnosti i pH-osetljivosti sintetisanih kopolimera. U cilju ispitivanja uticaja sastava hidrogelova na njihovu morfologiju, termička svojstva, kao i

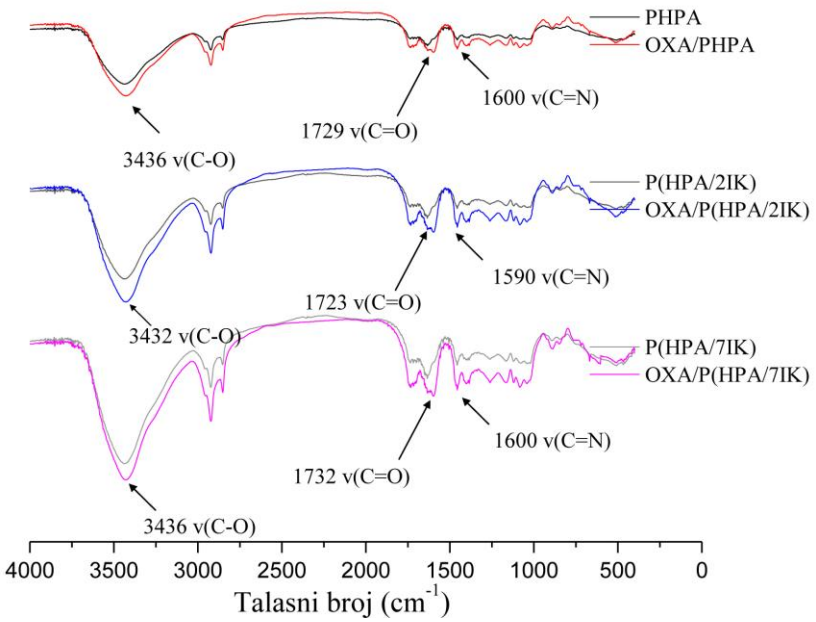
na ponašenje pri bubrenju i otpuštanju aktivne supstance, udeo itakonske kiseline u hidrogelovima je variran.



Shema 5. Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline.

4.2.1. Strukturna svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

FT-IC spektroskopskom analizom je utvrđena hemijska struktura sintetisanih PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova, kao i priroda formiranih veza. Ugradnja oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove je takođe ispitana FT-IC spektroskopijom. Dobijeni FT-IC spektri PHPA, P(HPA/2IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova i PHPA, P(HPA/2IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su prikazani na Slici 47.



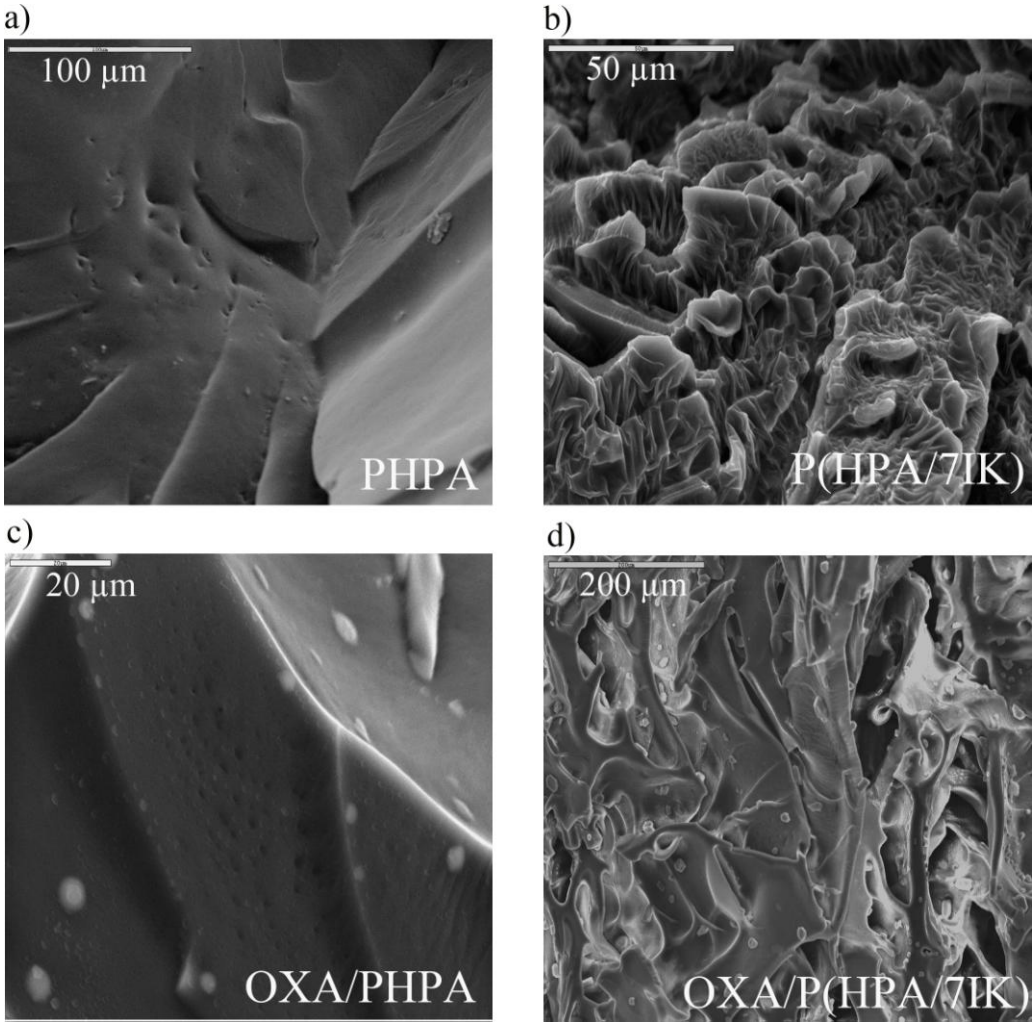
Slika 47. FT-IC spektri čistih i PHPA, P(HPA/2IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

FT-IC spektar PHPA hidrogela pokazuje sledeće karakteristične pikove: pik –OH grupe na 3436 cm^{-1}, pik na 1729 cm^{-1} odnosi se na vibracije karbonilne C=O grupe i pik za alifatične C–H vibracije u opsegu od 3000 – 2900 cm^{-1}. Intezivniji pikovi C=O grupe na talasnom broju 1723 cm^{-1} prikazani na spektru P(HPA/2IK) i OXA/P(HPA/2IK), kao i na 1732 cm^{-1} na spektru P(HPA/7IK) i OXA/P(HPA/7IK) hidrogelova potiču od dodatnih C=O grupa itakonske kiseline i oksaprozina. FT-IC spektri P(HPA/2IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova pokazuju široku apsorpcionu traku u oblasti 3700 – 3100 cm^{-1} što odgovara O–H vibracijama karboksilnih grupa itakonske kiseline [180]. Pikovi na 1590 i 1600 cm^{-1} prikazani na spektrima OXA/PHPA, OXA/P(HPA/2IK) i OXA/P(HPA/7IK) uzoraka potiču od istezanja C=N veze oksaprozina i potvrđuju uspešnu ugradnju oksaprozina u sintetisane PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove [157].

4.2.2. Morfologija PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

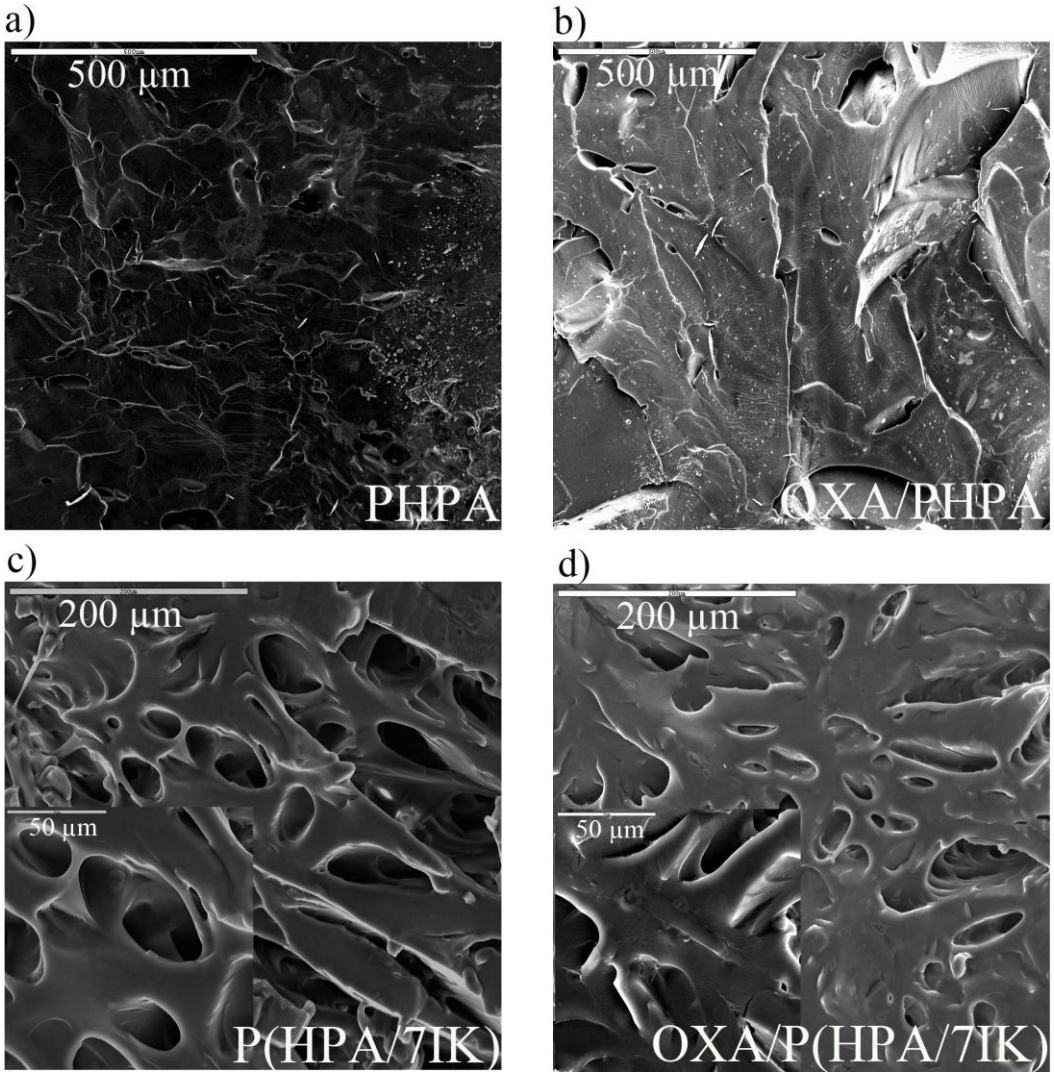
Morfologija sintetisanih PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova kao i uticaj ugrađenog oksaprozina na njihovu morfologiju ispitivani su skenirajućom elektronskom mikroskopijom. U cilju dobijanja jasnije slike o morfologiji ispitivanih uzoraka

analizirana je morfologija površine, kao i poprečnog preseka uzoraka pre i posle ugradnje oksaprozina. Dobijeni SEM mikrografi su prikazani na Slikama 48 i 49.



Slika 48. SEM mikrografi površine: a) PHPA, b) P(HPA/7IK), c) OXA/PHPA i d) OXA/P(HPA/7IK) hidrogelova.

SEM mikrografi pokazuju da je površina PHPA uzorka (Slika 48 a)) kompaktna, glatka, sa blagim neravninama, dok je površina hidrogela koji sadrži itakonsku kiselinu (PHPA/7IK) (Slika 48 b)) neravna, naborana, teksture nalik „koralnoj“, sa znatnim brojem mikrokanala. Površina P(HPA/7IK) hidrogela sa ugrađenim oksaprozinom (Slika 48 d)) je ravnija, sa manje izraženim naborima u poređenju sa površinom P(HPA/7IK) hidrogela, što može biti posledica popunjavanja mikrokanala adsorbovanim molekulima oksaprozina. Molekuli oksaprozina, ugrađeni u homopolimer PHPA ne menjaju značajno morfologiju njegove površine (Slika 48 c)).

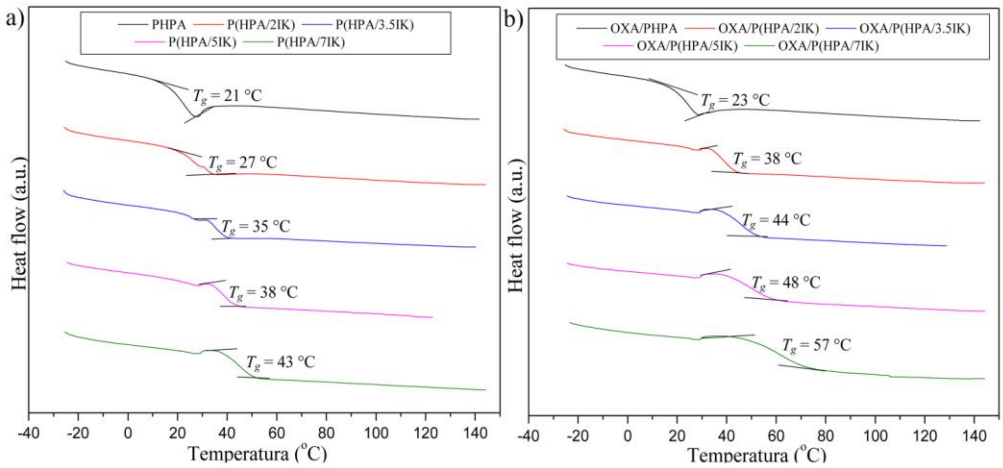


Slika 49. SEM mikrografi poprečnog preseka: a) PHPA, b) OXA/PHPA, c) P(HPA/7IK) i d) OXA/P(HPA/7IK) hidrogelova.

SEM mikrografi poprečnog preseka PHPA i P(HPA/7IK) hidrogelova (Slika 49 a) i c)) pokazuju da su uzorci koji sadrže itakonsku kiselinu porozniji, sa izraženim, heterogeno raspoređenim porama. Ugradnja oksaprozina u P(HPA/7IK) hidrogel utiče na morfologiju poprečnog preseka hidrogela čineći je manje poroznom, što se može pripisati popunjavanju pora molekulima oksaprozina (Slika 49 d)). Morfologija poprečnog preseka PHPA hidrogela nije značajno promenjena ugradnjom oksaprozina (Slika 49 b)). Prikazani rezultati SEM analize morfologije PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova pokazuju da sastav hidrogela, kao i ugradnja aktivne supstance imaju uticaj na morfologiju PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova.

4.2.3. Termička svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

Termička svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova, kao i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su ispitana upotrebom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC). Dobijene DSC krive i T_g vrednosti PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom prikazane su na Slici 50 a) i b). T_g vrednost PHPA dostupna u literaturi kreće se oko 22 °C, što je u skladu sa dobijenim rezultatima u ovom radu [190].



Slika 50. DSC termogrami i T_g vrednosti a) PHPA i P(HPA/IK) i b) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

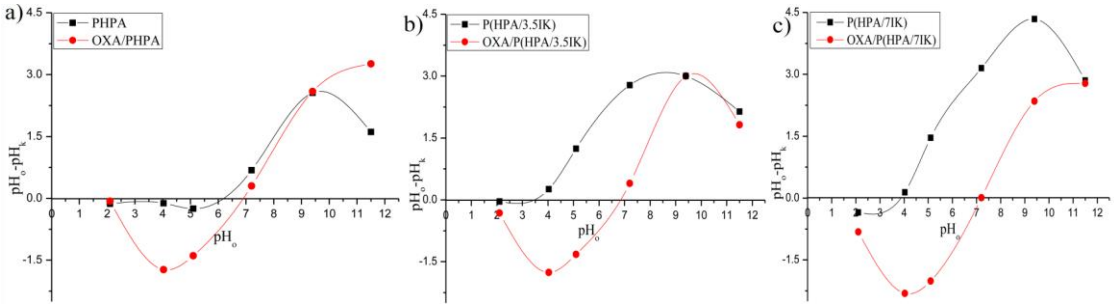
Kao što je prikazano na Slici 50 a) i b) svi uzorci jasno pokazuju jednu T_g vrednost što ukazuje na uspešnu kopolimerizaciju. Dobijene T_g vrednosti PHPA, P(HPA/2IK), P(HPA/3.5IK), P/HPA/5IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova iznose: 21, 27, 35, 38 i 43 °C. Uzorci sa ugrađenim oksaprozinom (OXA/PHPA, OXA/P(HPA/2IK), OXA/P(HPA/3.5IK), OXA/P(HPA/5IK) i OXA/P(HPA/7IK)) pokazuju sledeće T_g vrednosti: 23, 38, 44, 48 i 57 °C. Dobijeni rezultati DSC analize ukazuju na značajan uticaj sastava hidrogelova i prisustva aktivne supstance na T_g vrednost polimera. Povećanje udela IK u kopolimenoj strukturi dovodi do povećanja T_g vrednosti kopolimera. Podešavanjem odnosa hidrofilno-hidrofobnih segmenata u polimernoj strukturi može se dizajnirati polimer sa željenom T_g vrednošću. Povećanje sadržaja hidrofilnih grupa (poput karboksilne grupe) u polimernoj strukturi rezultira polimerom sa višim T_g vrednostima. To se može objasniti time da prisustvo hidrofilnih grupa u polimernoj strukturi povećava mogućnost uspostavljanja interakcija između

makromolekula kao i stvaranja intramolekulskih vodoničnih veza koje deluju kao dodatna umreženja, što rezultira višim vrednostima T_g.

Rezultati DSC analize PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenom oksaprozinom pokazuju da u ovom slučaju aktivna supstanca povećava T_g vrednosti gelova. Povećanje T_g vrednosti se može objasniti time da molekuli oksaprozina popunjavaju pore, smanjuju slobodnu zapreminu u polimernoj mreži i ometaju pokretljivost polimernih lanaca što ima za posledicu povećanje T_g vrednosti polimera.

4.2.4. Analiza naelektrisanja površine PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

Određivanje naelektrisanja površine hidrogelova je od posebnog značaja za njihovu primenu u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci kao što je objašnjeno u poglavlju 3.4.5. ovog rada. Zavisnost ΔpH u funkciji pH_0 u 0,1 M KNO3 rastvoru je prikazana na Slici 51 za čiste a) PHPA, b) P(HPA/3.5IK) i c) P(HPA/7IK) hidrogelove i hidrogelove sa ugrađenim oksaprozinom.



Slika 51. Zavisnost ΔpH u funkciji pH_0 u 0,1 M KNO3 rastvoru za čiste i oksaprozinom ugrađene a) PHPA, b) P(HPA/3.5IK) i c) P(HPA/7IK) hidrogelove.

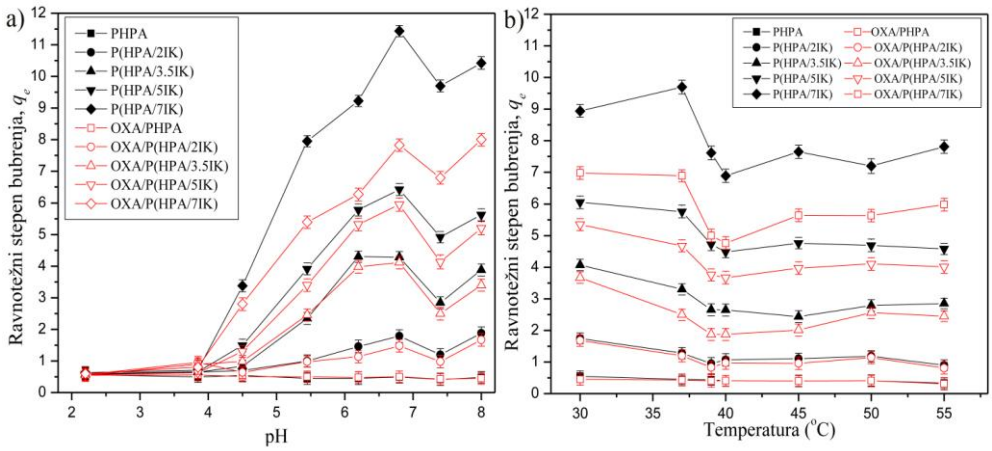
Naelektrisanje površine PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova je pH-zavisno usled postojanja jonskih grupa u polimernoj strukturi koje jonizuju u zavisnosti od pH vrednosti okolnog medijuma. Kao što je i očekivano, izmerene vrednosti pH_{PZC} zavise od sastava hidrogela, kao i prisustva adsorbovanih molekula oksaprozina. Hidrogelovi sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju slične vrednosti pH_{PZC} i svi uzorci imaju neutralnu površinu na pH vrednosti oko 7,0. Rezultati PZC analize pokazuju da ugrađen oksaprozin ne menja naelektrisanje površine PHPA hidrogela, ali da značajno menja naelektrisanje površine hidrogelova koji sadrže itakonsku kiselinu. Značajnija adsorpcija molekula oksaprozina na P(HPA/3.5IK) i P(HPA/7IK) hidrogelovima povećava količinu negativnog naelektrisanja na njihovoj povšini što rezultira višim

pH_{PZC} vrednostima u odnosu na odgovarajuće uzorke koji ne sadrže oksaprozin. Ovakavi rezultati su u saglasnosti sa literarurnim podatkom da sorpcija/adsorpcija anjona pomera pH_{PZC} vrednosti ka višim pH vrednostima [186].

4.2.5. Bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

4.2.5.1. pH- i temperaturno osetljivo bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

U cilju ispitivanja „inteligentnog“ ponašanja sintetisanih PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova, ispitivana su svojstva bubrenja u puferima fiziološkog opsega pH vrednosti (od pH 2,20 do 8,00), na temperaturi od 37 °C, kao i u temperaturnom opsegu od 30 do 55 °C u puferu pH vrednosti 7,40. Na Slici 52 prikazan je ravnotežni stepen bubrenja (q_e) čistih i hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u funkciji a) pH vrednosti i b) temperature.



Slika 52. Ravnotežni stepen bubrenja (q_e) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u funkciji a) pH vrednosti i b) temperature.

Rezultati prikazani na Slici 52 a) pokazuju da su P(HPA/IK) hidrogelovi pH-osetljivi. Vrednosti q_e prikazane u funkciji od pH pokazuju sličan trend za sve uzorke. Na pH vrednostima ispod pK_a vrednosti karboksilnih grupa itakonske kiseline (pK_{a1}=3,85 i pK_{a2}=5,45) vrednosti q_e su niže u slučaju svih ispitivanih hidrogelova. Niske vrednosti q_e u ovom pH intervalu su posledica uspostavljanja intramolekulskih vodoničnih veza preko karboksilnih grupa itakonske kiseline. Uspostavljene intramolekulske vodonične veze čine polimernu strukturu kompaktnijom što rezultira

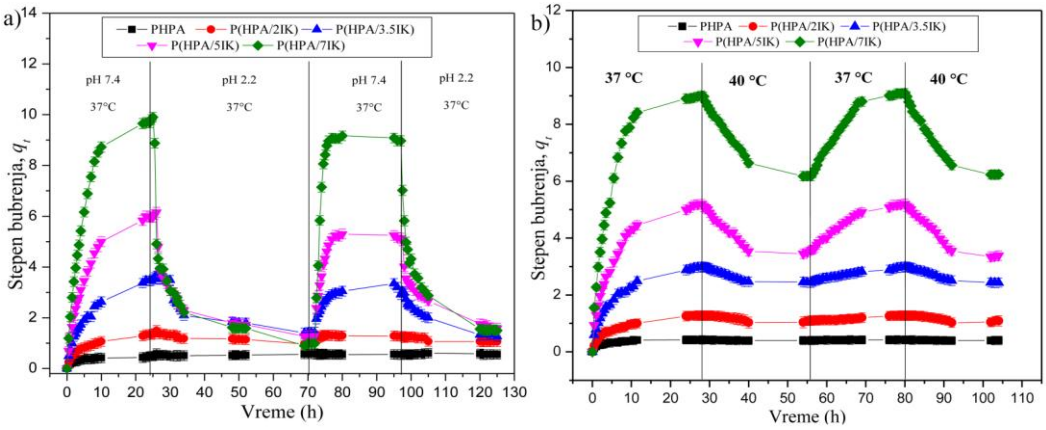
manjim kapacitetom bubrenja hidrogela. U slučaju kada su pH vrednosti okolnog medijuma veće od pK_a vrednosti karboksilnih grupa, sile elektrostatičkog odbijanja između nastalih jonizovanih grupa postaju dominantne, dovode do širenja polimerne mreže i za posledicu imaju veće vrednosti q_e. PHPA hidrogelovi ne pokazuju pH-osetljivost jer je HPA monomer neutralan. Rezultati analize bubrenja takođe pokazuju da hidrogelovi sa ugrađenim oksaprozinom imaju niže vrednosti q_e u poređenju sa odgovarajućim hidrogelovima bez aktivne supstance. Ovakvo ponašanje se može objasniti time da molekuli oksaprozina zauzimaju pore hidrogelova, smanjuju slobodnu zapreminu i ometaju pokretljivost i relaksaciju polimernih lanaca što rezultira nižim vrednostima q_e hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom.

Temperaturna osetljivost sintetisanih PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova kao i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom ispitivana je praćenjem bubrenja na različitim temperaturama (Slika 52 b)). PHPA je nedovoljno ispitan, temperaturno osetljiv polimer koji pokazuje značajnu promenu svoje zapremine na temperaturi od 16 °C [191]. Poznato je da VPTT vrednost zavisi od hidrofilno/hidrofobnog odnosa u polimernoj strukturi, pa se variranjem sastava polimera može dizajnirati materijal sa definisanom vrednošću VPTT [191]. Usled niske VPTT vrednosti PHPA homopolimera, njegovom kopolimerizacijom sa hidrofilnim monomerima može se uticati na povećanje VPTT, čime će se povećati mogućnost primene novonastalog temperaturno osetljivog polimera u fiziološkim uslovima. Kao što je prikazano na Slici 52 b) oštar pad vrednosti q_e izražen u temperaturnom opsegu od 37 do 40 °C ukazuje na temperaturnu osetljivost P(HPA/IK) hidrogelova. VPTT vrednost P(HPA/IK) hidrogelova je ~39 °C, što je posebno značajno za njihovu primenu u sistemima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, s obzirom da ta vrednost pripada opsegu fiziološke temperature. Vrednosti q_e P(HPA/IK) hidrogelova su veće na temperaturama nižim od VPTT, dok na višim temperaturama P(HPA/IK) hidrogelovi bubre manje. Na temperaturama nižim od VPTT uspostavljaju se jake vodonične veze između hidrofilnih grupa polimera i molekula vode što dovodi do širenja polimerne mreže i većih vrednosti q_e. Na temperaturama višim od VPTT intramolekulske interakcije (polimer-polimer i/ili voda-voda) postaju znatno dominantnije u odnosu na intermolekulske (polimer-voda) interakcije pa se manja količina vode zadržava u polimernoj mreži. Uspostavljanjem intramolekulskih interakcija dolazi do smanjenja

hidrofilnosti polimerne mreže što rezultira manjim kapacitetom bubrenja hidrogelova, odnosno manjim vrednostima q_e.

4.2.5.2. Reverzibilno ponašanje pri bubrenju PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

Reverzibilno ponašanje pri bubrenju sintetisanih P(HPA/IK) hidrogelova je ispitivano u promenljivim uslovima pH i temperature. Reverzibilno ponašanje i brzina odgovora na promenu stimulansa je posebno važno svojstvo za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci povratnim mehanizmom. Rezultati ispitivanja reverzibilnog ponašanja PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova pri bubrenju u variranim uslovima pH i temperature su prikazani na Slici 53 a) i b).



Slika 53. Reverzibilno ponašanje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova pri bubrenju u variranim uslovima a) pH vrednosti i b) temperature.

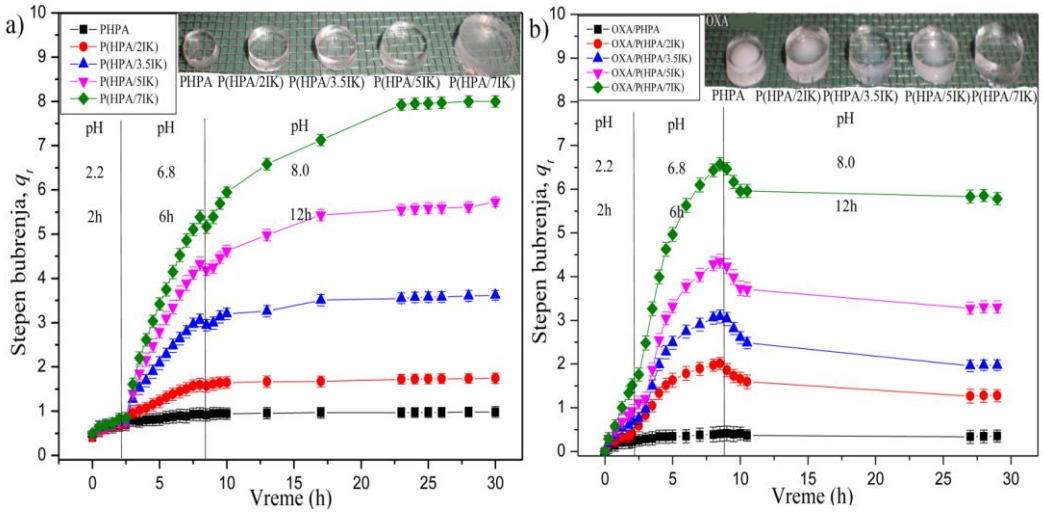
Kao što je prikazano na Slici 53 a) i b), P(HPA/IK) hidrogelovi pokazuju reverzibilno ponašanje pri bubrenju. Brzina bubrenja ispitivanih hidrogelova pri variranju pH vrednosti medijuma je manja od brzine kontrahovanja usled lakše difuzije molekula fluida iz nabubrele polimerne mreže u poređenju sa difuzijom molekula fluida u kontrahovanu polimernu mrežu. Rezultati takođe pokazuju da dodatak IK poboljšava pH- i temperaturno reverzibilno ponašanje hidrogelova pri bubrenju. Hidrogel sa najvećim udelom IK (P(HPA/7IK)) je pokazao najbolja pH reverzibilna svojstva i brz odgovor na promenu pH vrednosti.

U slučaju variranja temperature (Slika 53 b)) P(HPA/IK) hidrogelovi su takođe pokazali reverzibilno ponašanje pri bubrenju i relativno brz odgovor na promenu stimulansa. Dobijeni profili zavisnosti stepena bubrenja (q_t) od temperature su

simetričnog oblika usled sličnih brzina bubrenja i kontrahovanja polimerne mreže. Ovakvo ponašanje može biti posledica male razlike u vrednostima q_e ispitivanih hidrogelova na temperaturama 37 i 40 °C, te je u tom slučaju brzina difuzije molekula fluida iz polimerne mreže slična brzini difuzije molekula fluida u kontrahovanu polimernu mrežu.

4.2.5.3. Bubrenje PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta

Rezultati ispitivanja bubrenja čistih i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta prikazani su na Slici 54 a) i b). Fotografije PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom su takođe prikazane na Slici 54.



Slika 54. Stepen bubrenja (q_t): a) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova i b) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, u simuliranim uslovima gastrointestinalnog trakta.

Kao što je prikazano na Slici 54 a) i b) stepen bubrenja hidrogelova (q_t) dostiže niske vrednosti u medijumu pH vrednosti 2,20 dok je značajan porast vrednosti q_t postignut kada su uzorci prebačeni u medijume pH vrednosti 6,80 i 8,00. Mali kapacitet bubrenja P(HPA/IK) hidrogelova u kiseloj pH sredini i velike vrednosti q_t u neutralnoj do slabo baznoj sredini čine ispitivane hidrogelove odličnim kandidatima za dizajniranje sistema za otpuštanje aktivnih supstanci u donjem delu gastrointestinalnog trakta. Ovi sistemi su naročito pogodni kao polimerni nosači aktivnih supstanci koje su nestabilne u

kiselim uslovima želuca, kao i aktivnih supstanci koje ispoljavaju neželjene efekte u gornjem delu gastrointestinalnog trakta.

4.2.5.4. Kinetika bubrenja PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

Vrenosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e), difuzionog eksponenta (n), kinetičke konstante (k) i koeficijenta difuzije fluida (D), čistih i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, izračunate na osnovu rezultata bubrenja u puferu pH 7,40 na 37 °C, prikazane su u Tabeli 7.

Tabela 7. Vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e), difuzionog eksponenta (n), kinetičke konstante (k) i koeficijenta difuzije fluida (D), čistih i PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom, izračunate na osnovu rezultata bubrenja u puferu pH 7,40 na 37 °C.

Uzorak	q_e		n		k (s^{-1})		$D \times 10^7$ ($cm^2 s^{-1}$)	
	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA
PHPA	0,46	0,43	0,35	0,37	0,47	0,41	1,19	1,12
P(HPA/2IK)	1,22	1,20	0,43	0,48	0,40	0,47	1,28	1,24
P(HPA/3.5IK)	3,20	2,50	0,46	0,45	0,34	0,48	1,36	1,28
P(HPA/5IK)	5,13	4,13	0,51	0,57	0,33	0,44	1,53	1,47
P(HPA/7IK)	9,70	6,79	0,51	0,59	0,17	0,42	1,77	1,51

Mehanizam difuzije molekula fluida kroz polimernu mrežu se može objasniti na osnovu izračunatih vrednosti parametra n. Dobijene vrednosti parametra n za ispitivane hidrogelove ukazuju da je mehanizam transporta fluida Fikova difuzija u slučaju PHPA, P(HPA/2IK) i P(HPA/3.5IK) hidrogelova bez i sa ugrađenim oksaprozinom. Mehanizam transporta fluida je ne-Fikova difuzija u slučaju P(HPA/5IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova bez i sa ugrađenim oksaprozinom. To znači da i difuzija i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu transport molekula fluida kroz polimernu mrežu P(HPA/5IK) i P(HPA/7IK) hidrogelova. Izračunate vrednosti koeficijenta difuzije fluida D ukazuju na zavisnost ovog parametra od sastava hidrogela i prisustva aktivne supstance. Povećanje sadržaja IK rezultira većim vrednostima D, dok prisustvo

oksaprozina smanjuje vrednosti *D* što je u saglasnosti sa svojstvima bubrenja hidrogelova prikazanih i diskutovanih u poglavlju 4.2.5.1. ovog rada.

4.2.5.5. Parametri mreže PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

Molska masa polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja ($\overline{M}_c$) i veličina pora (ξ) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova, izračunati su primenom teorije ravnotežnog bubrenja upotrebom jednačina (12-15). Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 8.

Tabela 8. Vrednosti ravnotežnog stepena umreženja (q_e), molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja ($\overline{M}_c$) i veličine pora (ξ) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova, u puferu pH vrednosti 7,40, na 37 °C.

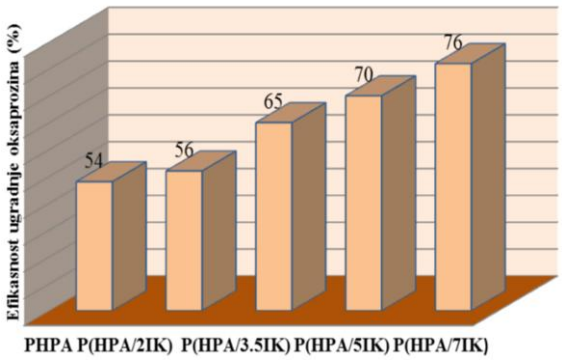
Uzorak	q_e		$\overline{M}_c$ (g mol^{-1})		ξ (nm)	
	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA	Bez OXA	Sa ugrađenim OXA
PHPA	0,46	0,43	23,790	21,350	0,277	0,261
P(HPA/2IK)	1,22	1,20	163,964	157,716	0,838	0,819
P(HPA/3.5IK)	3,20	2,59	2108,40	1150,30	3,717	2,605
P(HPA/5IK)	5,13	4,13	8447,34	4416,54	8,439	5,751
P(HPA/7IK)	9,70	6,79	54782,9	19409,4	25,87	13,857

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u Tabeli 8, jasno se uočava uticaj sastava hidrogela, kao i prisustva aktivne supstance na vrednosti parametara mreže. Povećanje sadržaja IK u polimernoj strukturi rezultira većim vrednostima molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja i porama većih dimenzija. Uzorke sa ugrađenom aktivnom supstancom karakterišu manje molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja i pore manjih dimenzija u poređenju sa odgovarajućim uzorcima koji ne sadrže aktivnu supstancu. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima bubrenja (poglavlje 4.2.5. ovog rada), kao i rezultatima SEM analize (poglavlje 4.2.2. ovog rada). Povećanje sadržaja IK u polimeru dovodi do

povećanja poroznosti polimerne strukture, dok molekuli ugradjene aktivne supstance popunjavaju pore i na taj način redukuju poroznost ispitivanih hidrogelova.

4.2.6. Efikasnost ugradnje oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove

Rezultati efikasnosti ugradnje (E%) oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove prikazani su na Slici 55.



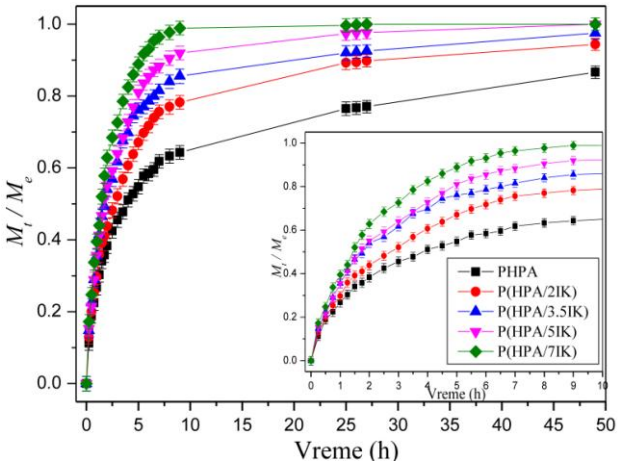
Slika 55. Efikasnost ugradnje (E %) oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove.

Najmanja efikasnost ugradnje oksaprozina je ostvarena sa homopolimernim PHPA hidrogelom. PHPA hidrogel je sposoban da apsorbuje najmanju količinu oksaprozina usled malog kapaciteta bubrenja u poređenju sa hidrogelovima koji sadrže IK. Povećanjem udela IK u hidrogelu povećava se i kapacitet bubrenja, kao i sposobnost apsorbovanja veće količine oksaprozina. U slučaju hidrogelova sa većim vrednostima q_e, difuzija molekula oksaprozina kroz polimernu mrežu je olakšana što rezultira efikasnijom ugradnjom oksaprozina. Najveća efikasnost ugradnje oksaprozina postignuta je sa uzorkom koji sadrži najveći udeo IK (P(HPA/7IK)). Dobijeni rezultati pokazuju da se hidrofobna aktivna supstanca oksaprozin može uspešno ugraditi u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove, kao i da se na efikasnost ugradnje aktivne supstance može uticati podešavanjem kapaciteta bubrenja, odnosno sastava hidrogela (variranjem udela IK).

4.2.7. *In vitro* otpuštanje oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

In vitro ispitivanje otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova izvedeno je u medijumima različite pH vrednosti (pH 2,20 i 7,40), na 37 °C. Ispitivanjem otpuštanja oksaprozina u puferu pH vrednosti 2,20, u medijumu za otpuštanje nije detektovano prisustvo oksaprozina ni nakon 48 h praćenja otpuštanja. Do

otpuštanja oksaprozina u puferu pH 2,20 nije došlo usled malog kapaciteta bubrenja hidrogelova i nerastvorljivosti oksaprozina u kiseloj pH sredini. U puferu pH 7,40 došlo je do otpuštanja oksaprozina i dobijeni profili otpuštanja su prikazani na Slici 56.



Slika 56. Profili otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u puferu pH 7,40, na 37 °C.

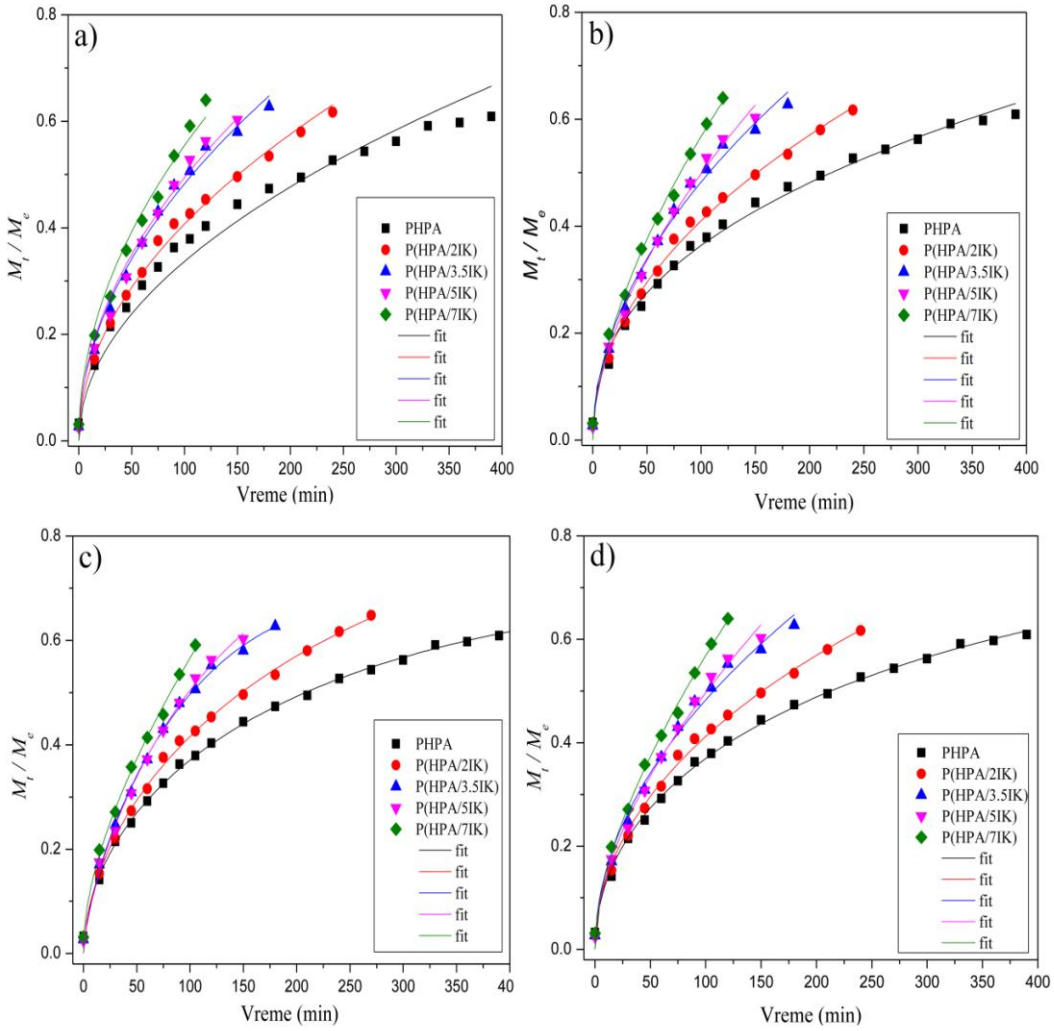
Kao što je prikazano na Slici 56 znatna razlika u profilima otpuštanja oksaprozina je izražena između PHPA i P(HPA/7IK) hidrogelova. Povećanje udela IK u hidrogelovima rezultira bržim otpuštanjem oksaprozina. Ovakvo ponašanje se može objasniti time da u medijumu pH vrednosti 7,40 dolazi do potpune jonizacije molekula oksaprozina (pK_a 4,3) i karboksilnih grupa IK. Elektrostatičko odbijanje između nastalih istoimenih naelektrisanja rezultira bržim otpuštanjem oksaprozina, te je najbrže otpuštanje oksaprozina postignuto sa uzorkom koji sadrži najveći udeo IK. Takođe, količina ugrađene aktivne supstance može da utiče na profil otpuštanja [189]. Hidogel sa najvećim sadržajem oksaprozina je pokazao najbrže otpuštanje. Ovakvo ponašanje se može pripisati većem koncentracionom gradijentu u slučaju uzorka hidrogela sa najvećom količinom ugrađenog oksaprozina. Što je koncentracioni gradijent između medijuma za otpuštanje i unutrašnjosti polimerne mreže veći to se oksaprozin brže otpušta.

Dobijeni rezultati otpuštanja oksaprozina iz ispitivanih hidrogelova su pokazali naglo otpuštanje oksaprozina u početnom periodu otpuštanja, takozvani „burst“ efekat, tokom prvog sata otpuštanja. Nakon tog vremena, uspostavljeno je ravnomernije i

sporije otpuštanje oksaprozina. Pojava „burst“ efekta se može pripisati adorbovanim molekulima oksaprozina koji se lako otpuštaju sa površine hidrogela.

4.2.8. Analiza procesa kontrolisanog otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova

U cilju analize mehanizma transporta molekula oksaprozina iz sintetisanih hidrogelova, *in vitro* dobijeni podaci otpuštanja 60 % oksaprozina su analizirani različitim jednačinama (jednačine (12-15)). Na Slici 57 a), b), c) i d) su prikazani podaci otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova analizirani jednačinama koje su prikazane u Tabeli 3. Izračunati parametri su prikazani u Tabeli 9.



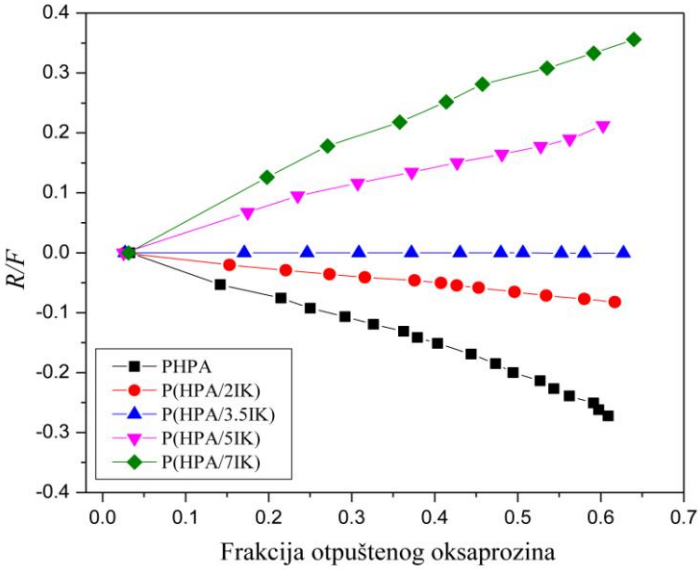
Slika 57. Podaci otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova analizirani a) Higuči, b) Ritger-Pepas, c) Pepas-Sahlin i d) Pepas-Sahlin (*m*=0,5) modelima.

Tabela 9. Parametri otpuštanja oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova dobijeni primenom Higuči, Ritger-Pepas, Pepas-Sahlin i Pepas-Sahlin (*m*=0,5) modela na podatke otpuštanja 60 % oksaprozina.

Primenjen model	Izračunati parametri, *SSR*, *AIC* i R^2	Uzorci				
		PHPA	P(HPA/2IK)	P(HPA/3.5IK)	P(HPA/5IK)	P(HPA/7IK)
1.Higuči model	k_H	0,033	0,040	0,048	0,049	0,055
	$SSR \times 10^4$	9,67	1,93	3,40	4,40	6,22
	AIC	-123	-109	-86	-75	-64
	R^2	0,965	0,993	0,990	0,987	0,984
2.Ritger-Pepas model	k_1	0,045	0,028	0,043	0,038	0,029
	n	0,505	0,619	0,582	0,614	0,670
	$SSR \times 10^4$	30,00	9,23	20,00	10,00	30,00
	AIC	-60,58	-65,88	-46,78	-48,35	-42,18
	R^2	0,990	0,997	0,993	0,995	0,989
3.Pepas-Sahlin model	k_1	0,036	0,034	0,024	0,023	0,044
	$k_2 \times 10^4$	-4,7	-3,3	-2,2	-1,8	0,004
	m	0,54	0,58	0,72	0,72	0,44
	$SSR \times 10^4$	0,9	1,2	1,7	2,3	3,0
	AIC	-170	-120	-89	-78	-59
	R^2	0,997	0,996	0,995	0,993	0,991
4.Pepas-Sahlin model gde je *m*=0,5	k_1	0,043	0,043	0,048	0,042	0,043
	$k_2 \times 10^4$	-5,92	-2,32	-2,10	7,34	0,001
	$SSR \times 10^4$	1,12	1,57	3,77	2,96	2,26
	AIC	-160	-110	-83	-77	-72
	R^2	0,996	0,995	0,989	0,991	0,994

Analizom vrednosti *AIK* pokazano je da Pepas-Sahlin (Slika 57 c)) model najoptimalnije opisuje fenomen otpuštanja oksaprozina iz PHPA, P(HPA/2IK), P(HPA/3.5IK) i P(HPA/5IK) hidrogelova, dok Pepas-Sahlin model kada je *m*=0,5 (Slika 57 d)) najoptimalnije opisuje mehanizam transporta molekula oksaprozina iz P(HPA/7IK) hidrogela. Mehanizam transporta aktivne supstance se može analizirati na osnovu vrednosti parametra *n* izračunatog primenom Ritger-Pepas modela. Dobijene vrednosti *n* (0,50 do 0,67) ukazuju da je mehanizam transporta oksaprozina iz PHPA hidrogela Fikova difuzija, dok je u slučaju hidrogelova koji sadrže IK zastupljen ne-

Fikov mehanizam transporta oksaprozina, odnosno i difuzija i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu mehanizam otpuštanja oksaprozina.



Slika 58. Zavisnost frakcije otpuštenog oksaprozina iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova od dnosa relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*).

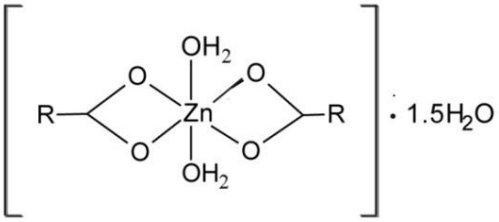
Primenom jednačine (16) i izračunatih parametra k_1 i k_2 (primenom Pepas-Sahlin modela) izračunat je odnos relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*). Zavisnost vrednosti *R/F* odnosa i frakcije otpuštenog oksaprozina je prikazana na Slici 58. Dobijeni rezultat je dodatna potvrda da je mehanizam transporta oksaprozina Fikova difuzija isključivo u slučaju PHPA hidrogela u svim ostalim slučajevima mehanizam transporta oksaprozina je kontrolisan difuzijom i relaksacijom polimernih lanaca.

4.3. Procena podobnosti hidrogelova na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

U cilju oderđivanja podobnosti primene sintetisanih hidrogelova na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, pored aktivne supstance - oksaprozin, ispitana je i mogućnost ugradnje i kontrolisanog otpuštanja derivata oksaprozina [193-195]. U tu svrhu, korišćeni su kompleksi prelaznih metala (Ni(II) i Zn(II)) sa oksprozinom, kao potencijalno biološki aktivne supstance sa antiproliferativnim efektom [195].

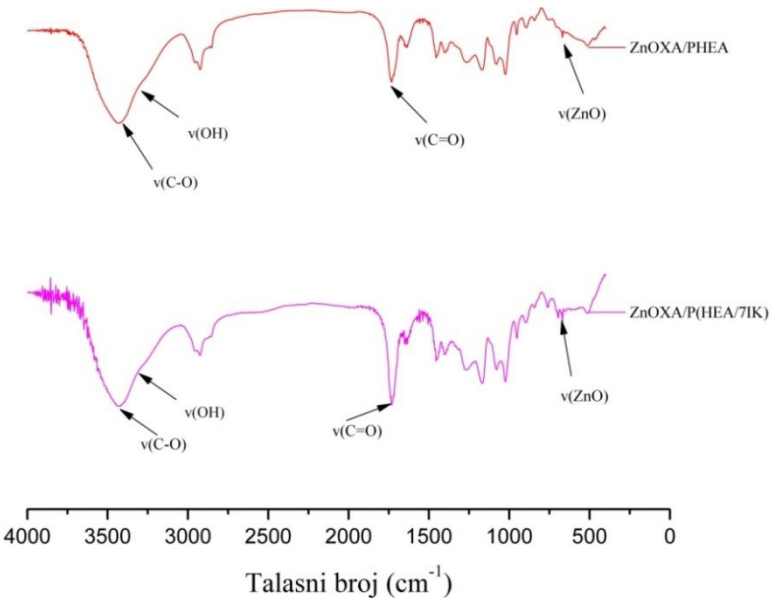
4.3.1. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom

Sintetisani hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline su dodatno testirani i kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom (ZnOXA). Strukturna formula ZnOXA prikazana je na Slici 59.



Slika 59. Strukturna formula Zn(II) kompleksa sa oksaprozinom (R-ligand OXA) [158].

Ugradnja ZnOXA u sintetisane P(HEA/IK) hidrogelove potvrđena je FT-IC spektroskoskopijom, kao i UV-Vis spektofotometrijom. FT-IC spektri PHEA i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA prikazani su na Slici 60.

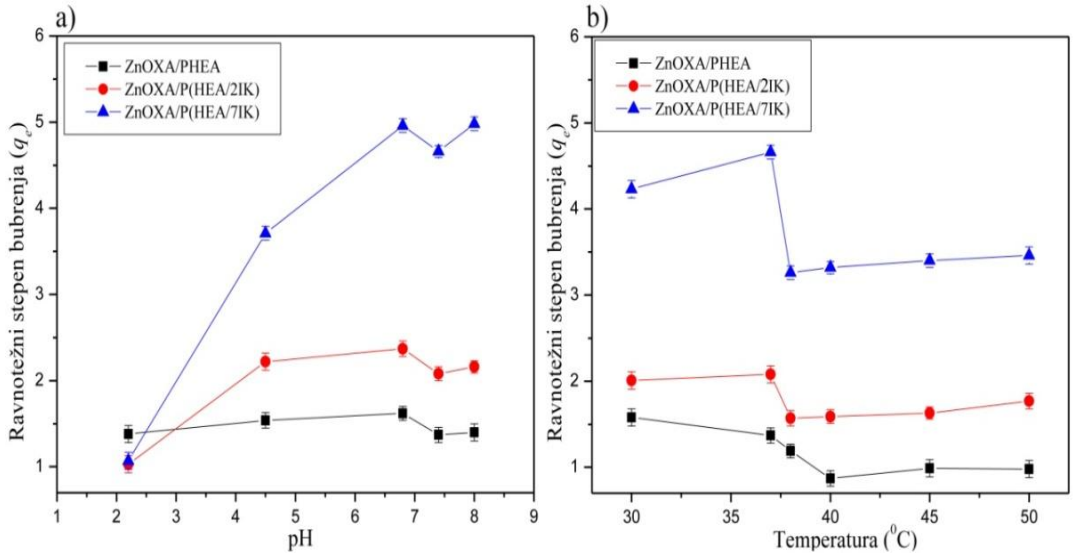


Slika 60. FT-IC spektar PHEA i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA

Dobijeni FT-IC spektri PHEA i P(HEA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA pokazuju sledeće krakteristične pikove: pik –OH grupe na 3435 cm^{-1}, pik na 1739 cm^{-1} odnosi se na vibracije karbonilne C=O grupe i pik za alifatične C–H vibracije u opsegu od 3000 – 2900 cm^{-1}. Uspešnu ugradnju ZnOXA u ispitivane hidrogelove potvrđuje

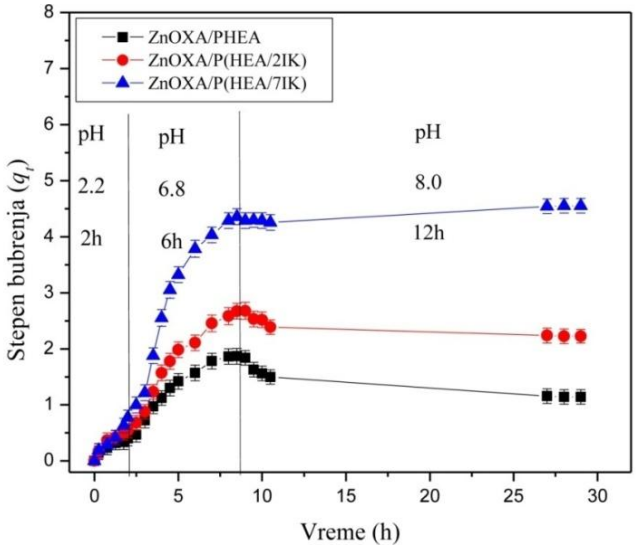
pojava slabih apsorpcionih traka u opsegu 450 – 440 cm^{-1} što odgovara Zn–O vibracijama [192]. Dodatna potvrda ugradnje ZnOXA u hidrogelove je pojava široke apsorpcione trake u oblasti 3300 – 3200 cm^{-1} (O–H vibracije) koja potiče od prisustva koordinativno i nekoordinativno vezanih molekula vode ZnOXA kompleksa.

U daljem istraživanju ispitan je uticaj ugrađenog ZnOXA u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove na njihovo „inteligentno" ponašanje. Rezultati ispitivanja pH- i temperaturne osetljivosti hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA su prikazani na Slici 61 u vidu zavisnosti vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja q_e od a) pH vrednosti i b) temperature.



Slika 61. Zavisnost vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA od: a) pH i b) temperaturne.

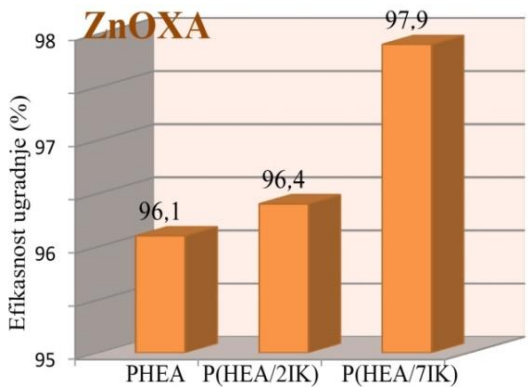
Dobijeni rezultati ispitivanja pH i temperaturne osetljivosti PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA pokazuju da ugrađena aktivna supstanca smanjuje kapacitet bubrenja ispitivanih hidrogelova, ali ne utiče na pH i temperaturnu osetljivost P(HEA/IK) hidrogelova. Pored pH- i temperaturne osetljivosti, ispitivano je i bubrenje hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta. Dobijeni rezultati prikazani su na Slici 62.



Slika 62. Vrednost stepena bubrenja (q_t) PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta.

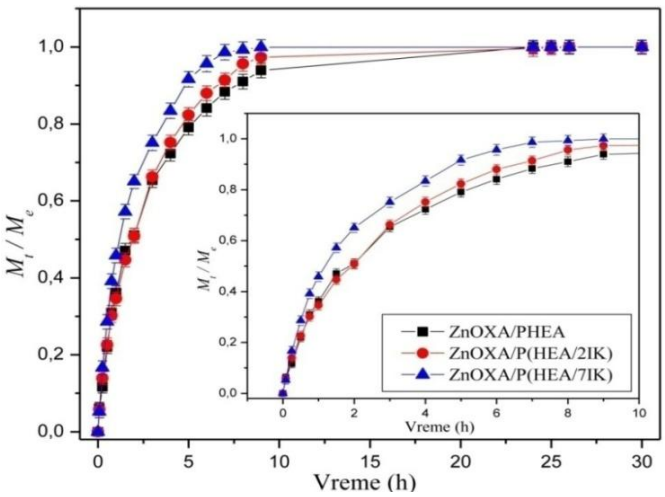
Rezultati ispitivanja bubrenja PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sa ugrađenim ZnOXA, u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta pokazuju da ispitivani hidrogelovi bubre manje u kiseloj sredini, dok vrednost stepena bubrenja znatno raste u medijumima pH vrednosti 6,80 i 8,00. Ovakvo ponašanje ispitivanih hidrogelova, čini ih pogodnim kandidatima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci u neutralnoj do slabo baznoj sredini, dok će otpuštanje u kiseloj sredini želuca biti onemogućeno.

Efikasnost ugradnje ZnOXA u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove određen je primenom jednačine 8. Dobijeni rezultati su prikazani na Slici 63. Najveća efikasnost ugradnje ZnOXA postignuta je sa P(HEA/7IK) uzorkom, dok je PHEA hidrogel manje efikasan. Kao i u slučaju ugradnje oksaprozina u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove, udeo itakonske kiseline u hidrogelu utiče na efikasnost ugradnje aktivne supstance. Uzorci sa većim sadržajem itakonske kiseline, imaju veći kapacitet bubrenja i pokazuju veću efikasnost ugradnje aktivne supstance.



Slika 63. Efikasnost ugradnje ZnOXA u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove.

PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovi sa ugrađenim ZnOXA su dalje ispitivani kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance. Kinetika otpuštanja je praćena u medijumima različite pH vrednosti (pH 2,20 i 7,40, na 37 °C), merenjem apsorbance na λ=284 nm, upotrebom UV-Vis spektrofotometra. U medijumu pH vrednosti 2,20 nije detektovano prisustvo ZnOXA nakon 48 h praćenja otpuštanja, dok je u medijumu pH vrednosti 7,40 došlo do otpuštanja ZnOXA i dobijeni profili su prikazani na Slici 64.

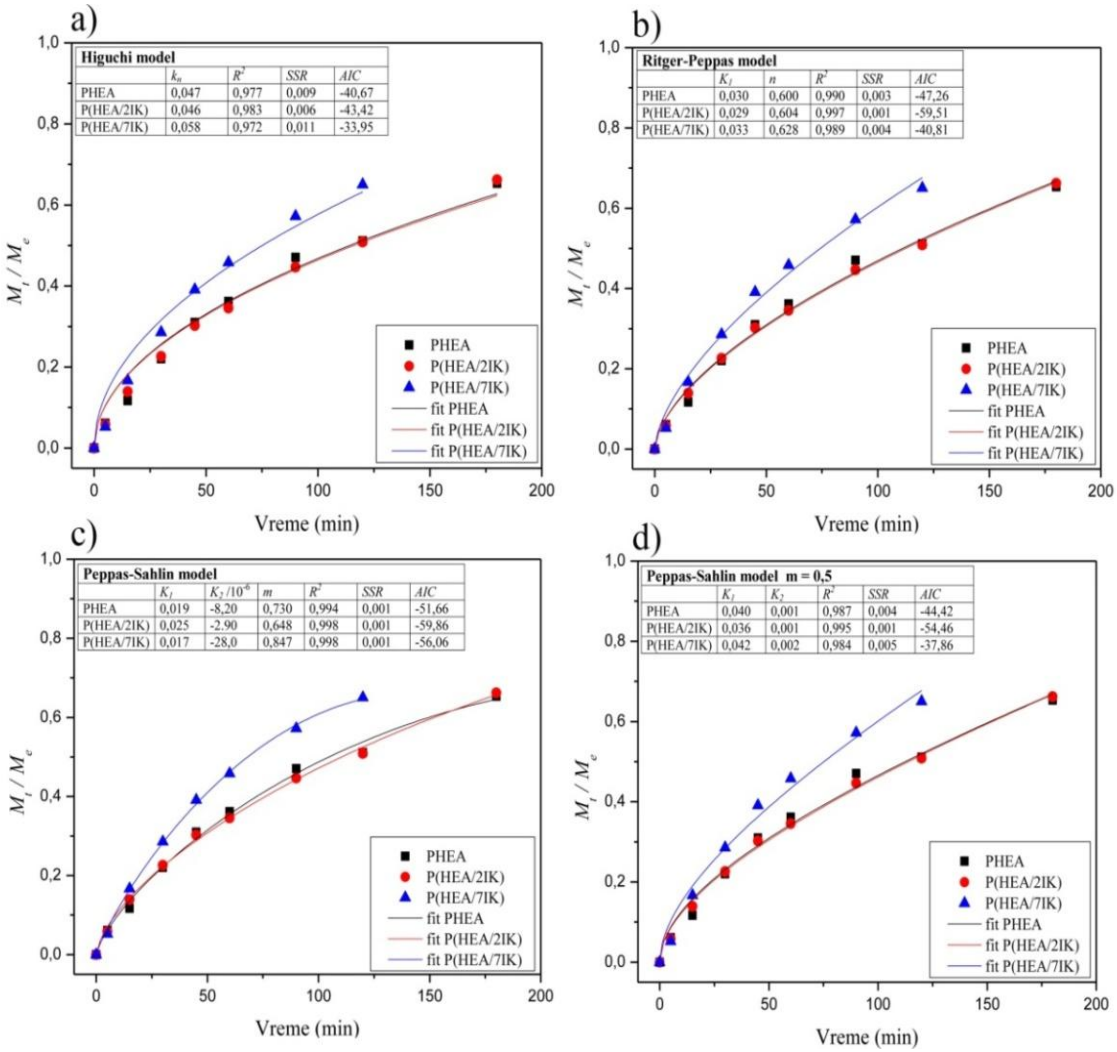


Slika 64. Profili otpuštanja ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u medijumu pH vrednosti 7,40, na 37 °C.

Rezultati otpuštanja ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova pokazuju da profil otpuštanja ZnOXA zavisi od sastava hidrogela. Uzorak sa najvećim sadržajem itakonske kiseline (P(HEA/7IK)) je pokazao brže otpuštanje ZnOXA, što može biti

posledica većeg kapaciteta bubrenja P(HEA/7IK) hidrogela, kao i većeg sadržaja ZnOXA u ovom uzorku.

Dobijeni rezultati otpuštanja 60 % ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova analizirani su jednačinama prikazanim u Tabeli 3 i izračunati parametri su prikazani u tabelama u okviru Slike 65.

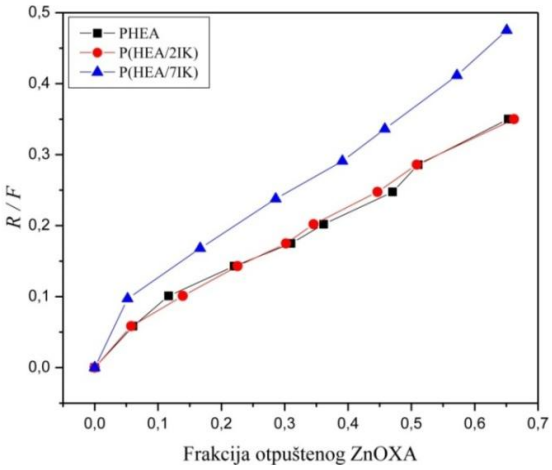


Slika 65. Eksperimentalno dobijeni podaci otpuštanja 60 % ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova analizirani a) Higuči, b) Ritger-Pepas, c) Pepas-Sahlin i d) Pepas-Sahlin (*m*=0,5) modelima.

Na osnovu vrednosti *AIC* parametra može se zaključiti da Peppas-Sahlin model (Slika 65 c)) najoptimalnije opisuje otpuštanje ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova. Mehanizam transporta aktivne supstance kroz polimernu mrežu može se

analizirati na osnovu vrednosti parametra *n* izračunatog primenom Ritger-Peppas modela. Dobijene vrednosti *n*>0,5 ukazuju da je mehanizam transporta molekula ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova ne-Fikova difuzija, što znači da i difuzija i relaksacija polimernih lanaca utiču na mehanizam transporta ZnOXA kroz polimernu mrežu PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova.

Primenom jednačine (16) i izračunatih vrednosti parametra k_1 i k_2 (primenom Pepas-Sahlin modela) izračunat je odnos relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*). Zavisnost vrednosti *R/F* odnosa i frakcije otpuštenog ZnOXA je prikazana na Slici 66.

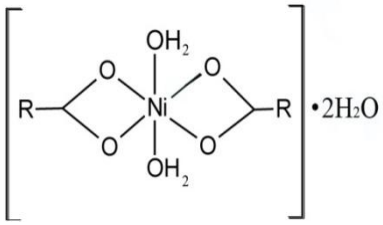


Slika 66. Zavisnost frakcije otpuštenog ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova od dnosa relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*).

Dobijeni rezultati su dodatna potvrda da je mehanizam transporta ZnOXA ne-Fikova difuzija za PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove. Oba fenomena, i difuzija i relaksacija polimernih lanaca, utiču na mehanizam transporta ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova.

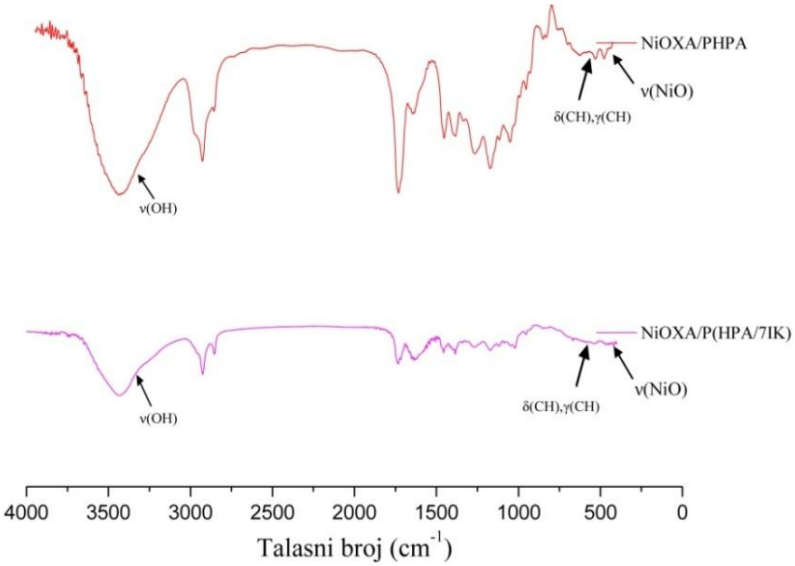
4.3.2. Hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Ni(II) kompleksa sa oksaprozinom

Sintetisani hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline su dodatno testirani kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje Ni(II) kompleksa sa oksaprozinom (NiOXA). Strukturna formula NiOXA prikazana je na Slici 67.



Slika 67. Strukturna formula Ni(II) kompleksa sa oksaprozinom (R-ligand OXA) [158].

Ugradnja NiOXA u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove potvrđena je FT-IC spektroskoskopijom, kao i UV-Vis spektofotometrijom. Dobijeni FT-IC spektri PHPA i P(HPA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA prikazani su na Slici 68.

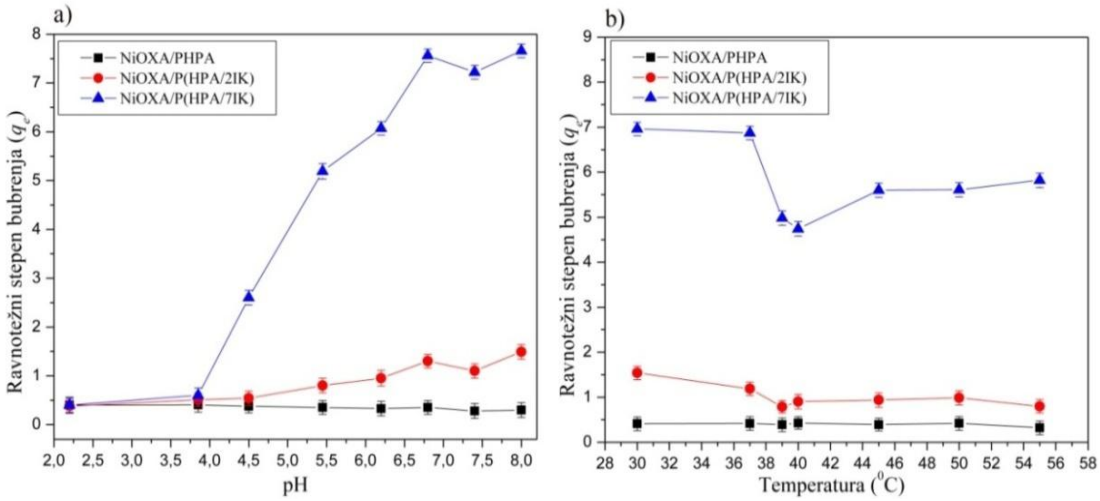


Slika 68. FT-IC spektar PHPA i P(HPA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA kompleksom.

FT-IC spektri PHPA i P(HPA/7IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA pokazuju sledeće karakteristične pikove: pik –OH grupe na 3436 cm^{-1}, pikovi na 1729 cm^{-1} (spektar NiOXA/PHPA) i na 1732 cm^{-1} (spektar NiOXA/P(HPA/7IK) odnose se na vibracije karbonilne C=O grupe, pik za alifatične C–H vibracije u opsegu od 3000 – 2900 cm^{-1}. Uspešnu ugradnju NiOXA u ispitivane hidrogelove potvrđuje pojava izraženog pika na 447 cm^{-1}, kao i pojava slabih apsorpcionih traka u opsegu 450 – 440 cm^{-1} što odgovara Ni–O vibracijama [192]. Dodatna potvrda ugradnje NiOXA u hidrogelove je pojava široke apsorpcione trake u oblasti 3300 – 3200 cm^{-1} (O–H

vibracije) koja potiče od prisustva koordinativno i nekoordinativno vezanih molekula vode iz NiOXA kompleksa.

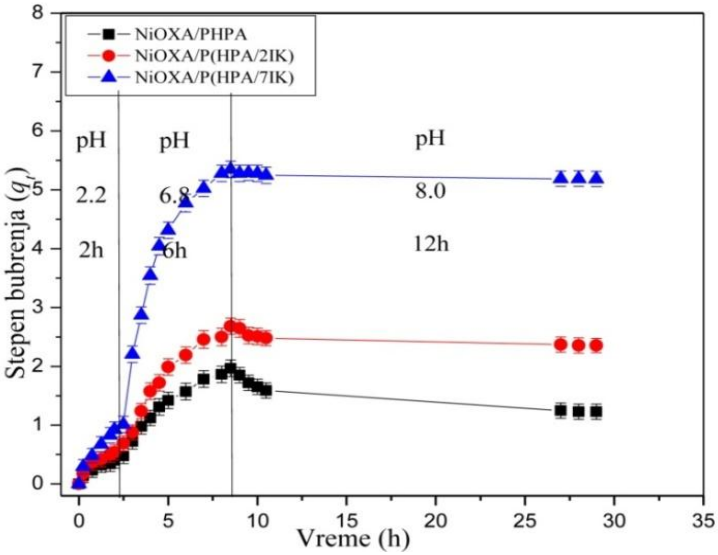
U daljem istraživanju ispitan je uticaj ugrađenog NiOXA u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove na njihovo „inteligentno" ponašanje. Rezultati ispitivanja pH- i temperaturne osetljivosti hidrogelova sa ugrađenim NiOXA su prikazani na Slici 69 u vidu zavisnosti vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja q_e ispitivanih hidrogelova od a) pH vrednosti i b) temperature.



Slika 69. Zavisnost vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA od: a) pH i b) temperaturne.

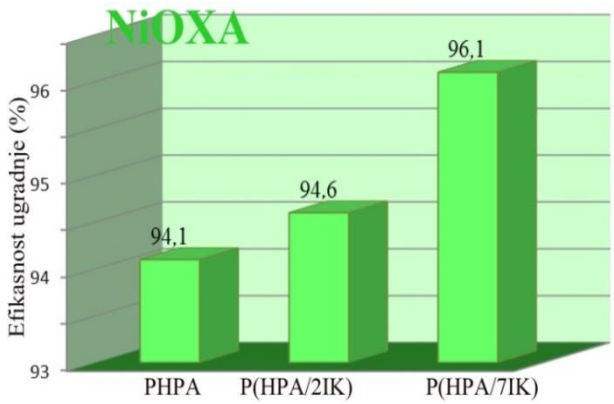
Dobijeni rezultati ispitivanja pH i temperaturne osetljivosti PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA pokazuju da ugrađena aktivna supstanca smanjuje kapacitet bubrenja ispitivanih hidrogelova, ali ne utiče na pH- i temperaturnu osetljivost P(HPA/IK) hidrogelova. Pored pH i temperaturne osetljivosti, ispitivano je i bubrenje hidrogelova sa ugrađenim NiOXA u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta. Dobijeni rezultati prikazani su na Slici 70.

Dobijeni rezultati ispitivanja bubrenja u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta pokazuju da PHPA i P(HPA/IK) hidrogelovi sa ugrađenim NiOXA bubre manje u kiseloj sredini, dok u medijumima pH vrednosti 6,80 i 8,00, stepen bubrenja ispitivanih hidrogelova raste. Ovakvo ponašanje ispitivanih hidrogelova, čini ih pogodnim kandidatima za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci u neutralnoj do slabo baznoj sredini, dok će efekat otpuštanja u kiseloj sredini želuca izostati.



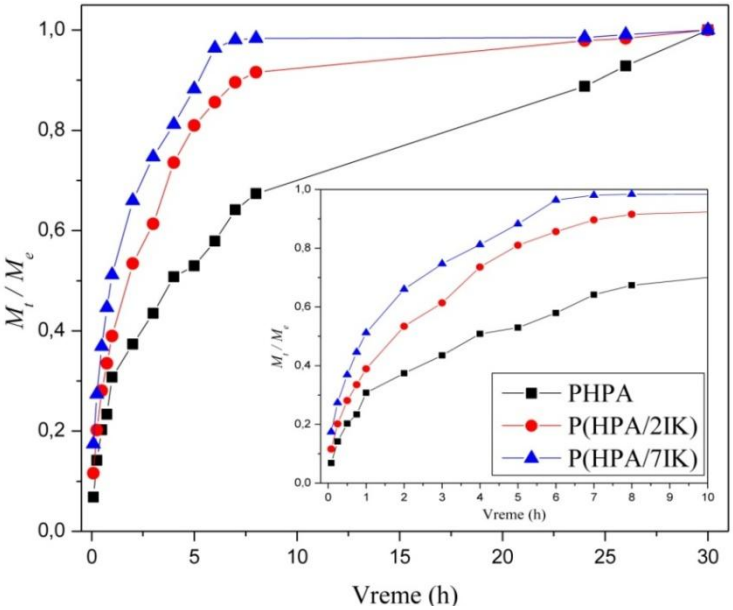
Slika 70. Vrednost stepena bubrenja (q_t) PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sa ugrađenim NiOXA u simuliranim pH uslovima gastrointestinalnog trakta.

Efikasnost ugradnje NiOXA u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove određen je primenom jednačine 8. Dobijeni rezultati su prikazani na Slici 71. Najveća efikasnost ugradnje NiOXA postignuta je sa P(HPA/7IK) uzorkom, dok je PHPA hidrogel pokazao manju efikasnost. Kao i u slučaju ugradnje oksaprozina u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove, udeo itakonske kiseline u hidrogelu utiče na efikasnost ugradnje aktivne supstance. Uzorci sa većim sadržajem itakonske kiseline, poseduju veći kapacitet bubrenja i usled toga pokazuju veću efikasnost ugradnje aktivne supstance u ispitivane polimerne matrice.



Slika 71. Efikasnost ugradnje NiOXA u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove.

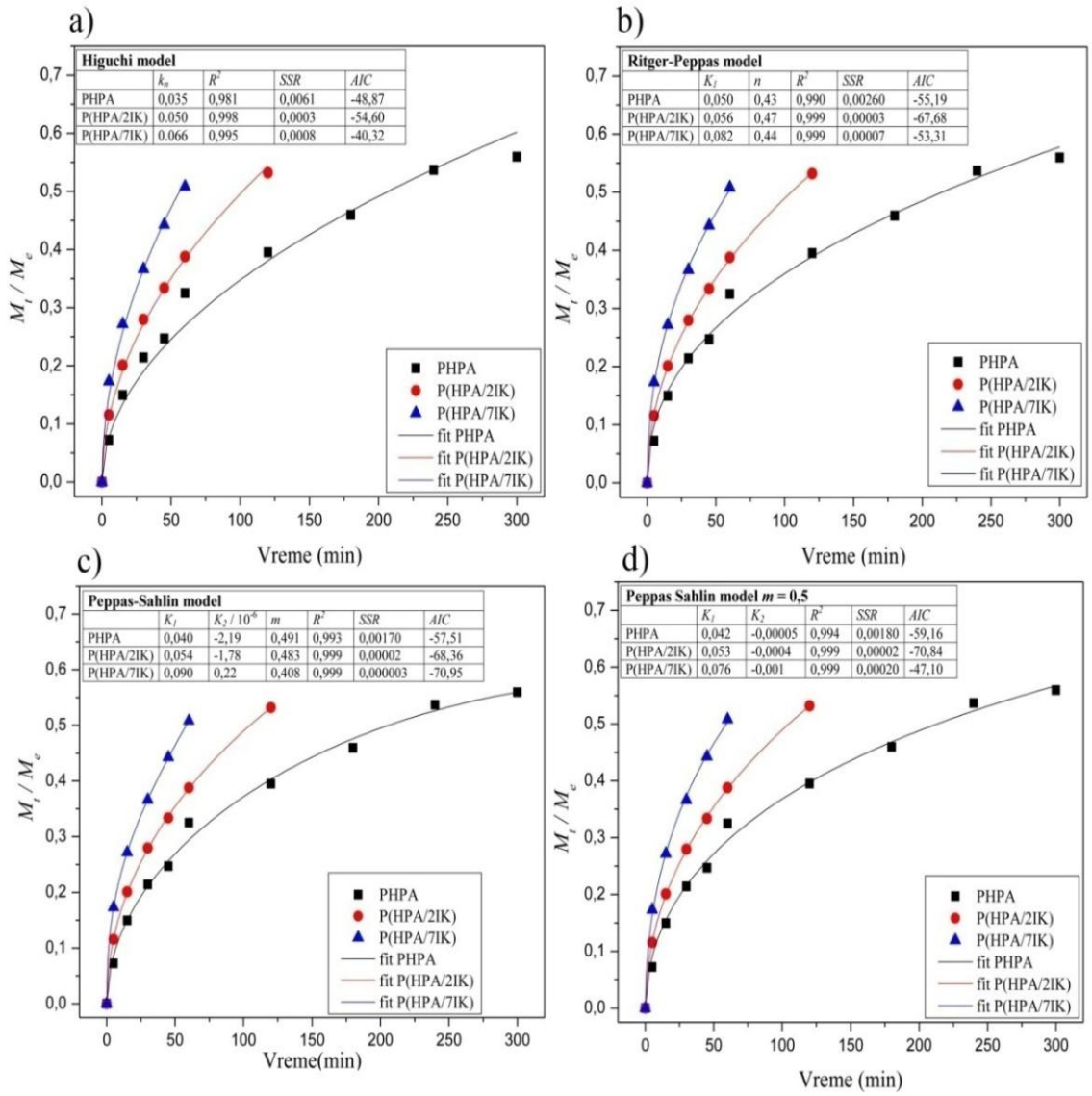
PHPA i P(HPA/IK) hidrogelovi sa ugrađenim NiOXA su dalje ispitivani kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance. Kinetika otpuštanja je praćena u medijumima različite pH vrednosti (pH 2,20 i 7,40, na 37 °C), merenjem apsorbance na λ=284 nm, upotrebom UV-Vis spektrofotometra. U medijumu pH vrednosti 2,20 nije detektovano prisustvo NiOXA nakon 48 h praćenja otpuštanja, dok je u medijumu pH vrednosti 7,40 došlo do otpuštanja NiOXA i dobijeni profili su prikazani na Slici 72.



Slika 72. Profili otpuštanja NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u medijumu pH vrednosti 7,40, na 37 °C.

Rezultati otpuštanja NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova pokazuju da profil otpuštanja NiOXA zavisi od sastava hidrogela. Uzorak sa najvećim sadržajem itakonske kiseline (P(HPA/7IK)) je pokazao brže otpuštanje NiOXA, što može biti posledica većeg kapaciteta bubrenja P(HPA/7IK) hidrogela, kao i većeg sadržaja NiOXA u ovom uzorku.

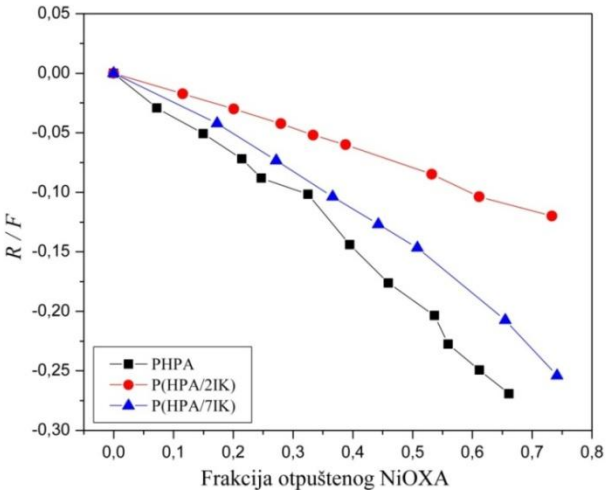
Dobijeni rezultati otpuštanja 60 % NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova analizirani su primenom jednačina prikazanih u Tabeli 3, (Slika 73) i izračunati parametri su prikazani u tabelama u okviru Slike 73.



Slika 73. Podaci otpuštanja NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova analizirani a) Higuči, b) Ritger-Pepas, c) Pepas-Sahlin i d) Pepas-Sahlin (*m*=0,5) modelima.

Na osnovu vrednosti AIC parametra može se zaključiti da Pepas-Sahlin (*m*=0,5) model (Slika 73 d)) najoptimalnije opisuje otpuštanje NiOXA iz PHPA i P(HPA/2IK) hidrogelova, dok Pepas-Sahlin model (Slika 73 c)) najoptimalnije opisuje otpuštanje NiOXA iz P(HPA/7IK) hidrogela. Mehanizam transporta aktivne supstance kroz polimernu mrežu može se analizirati na osnovu vrednosti parametra *n* izračunatog primenom Ritger-Pepas modela. Dobijene vrednosti $n<0,50$ ukazuju da je mehanizam transporta molekula NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova Fikova difuzija.

Primenom jednačine (16) i izračunatih vrednosti parametra k_1 i k_2 (primenom Pepas-Sahlin modela) izračunat je odnos relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*). Zavisnost vrednosti *R/F* odnosa i frakcije otpuštenog NiOXA je prikazana na Slici 74. Dobijeni rezultati, prikazani na Slici 74, su dodatna potvrda da je mehanizam transporta molekula NiOXA kroz polimernu mrežu PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova Fikova difuzija.



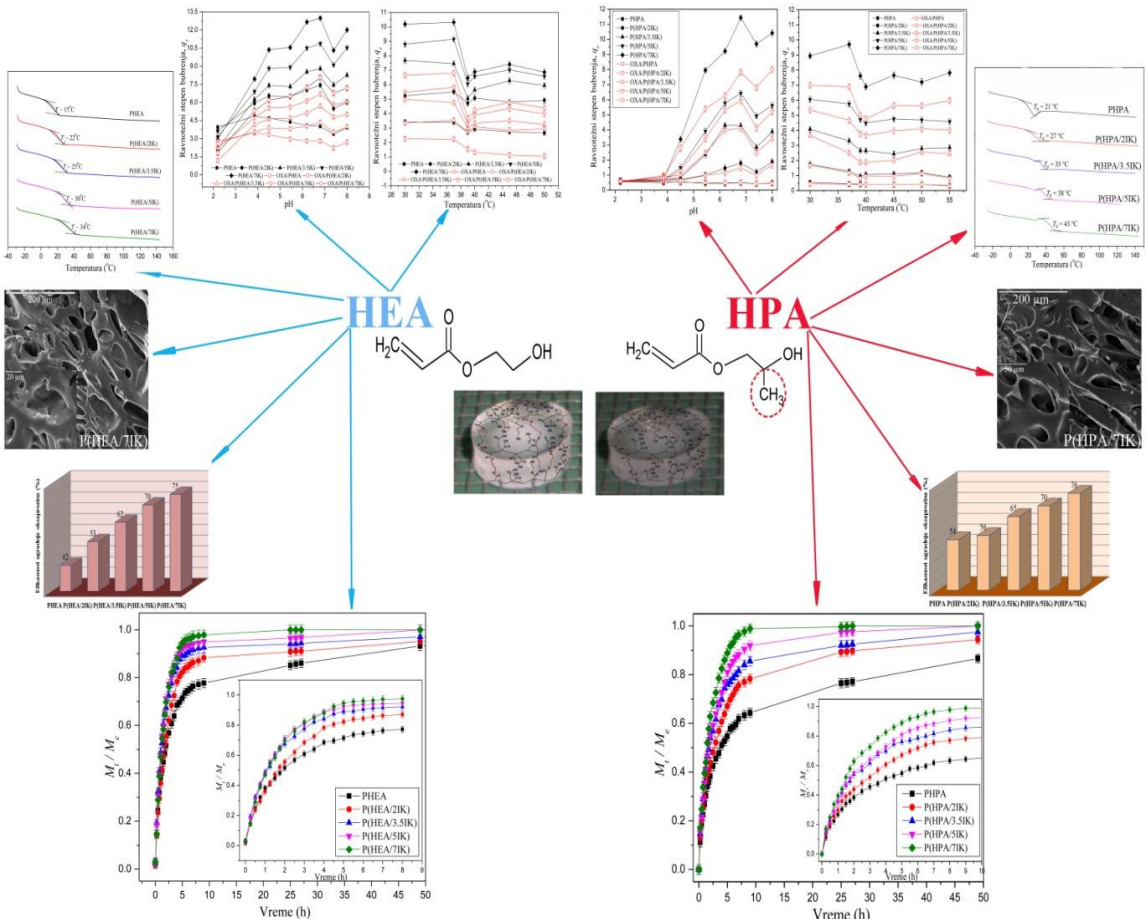
Slika 74. Zavisnost frakcije otpuštenog NiOXAiz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova od dnosa relaksacije polimernih lanaca (*R*) i Fikovog doprinosa (*F*).

4.4. Uticaj sastava hidrogelova na njihova svojstva kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje oksaprozina

U cilju ispitivanja uticaja sastava hidrogela na njegova svojstva kao polimerne matrice za ugradnju i kontrolisano otpuštanje oksaprozina, u okviru ove disertacije sintetisane su dve serije hidrogelova upotrebom monomera različite hemijske strukture. Prva serija hidrogelova je na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline, dok su kao polazni monomeri za sintezu druge serije hidrogelova korišćeni 2-hidroksipropil akrilat i itakonska kiselina. U svim uzorcima je variran molski udeo itakonske kiseline. Osnovna razlika između odabranih monomera je prisustvo dodatne metil grupe u strukturi 2-hidroksipropil akrilata u poređenju sa strukturom 2-hidroksietil akrilata.

U okviru ove disertacije izvršena je analiza hemijske strukture, morfologije, termičkih svojstava, naelektrisanja površine, pH- i temperaturne osetljivosti sintetisanih hidrogelova, kao i mogućnost njihove primene u vidu polimernih matrica za ugradnju i kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Rezultati navedenih analiza su detaljno i

pojedinačno prikazani u prethodnim poglavljima ove disertacije, dok su u ovom poglavlju dobijeni rezultati sumirani i dovedeni u vezu sa hemijskom strukturom hidrogela. Na Slici 75 prikazan je uticaj sastava hidrogela na pH- i temperaturnu osetljivost, termička svojstva, morfologiju sintetisanih hidrogelova i njihova svojstva kao polimernih matrica za ugradnju i kontrolisano otpuštanje oksaprozina.



Slika 75. Uticaj sastava hidrogela na temperaturnu i pH- osetljivost, termička svojstva i morfologiju, kao i na njegova svojstva kao matrice za ugradnju i kontrolisano otpuštanje oksaprozina.

Kao što je prikazano na Slici 75, osnovna razlika između sintetisanih hidrogelova je prisustvo dodatne metil grupe u strukturi 2-hidroksipropil akrilata (HPA) u poređenju sa strukturom 2-hidroksietil akrilata (HEA). Kao posledica prisustva dodatne metil grupe dobijen je polimerni materijal manje hidrofilnosti u poređenju sa P(HEA/IK) hidrogelom. Manje hidrofilna priroda P(HPA/IK) hidrogelova rezultira polimernim materijalom manjeg kapaciteta bubrenja. Međutim, prisustvo dodatne metil

grupe u strukturi P(HPA/IK) hidrogelova ne utiče na njihovu pH- i temperaturnu osetljivost.

Rezultati ispitivanja morfologije sintetisnih hidrogelova ne ukazuju na značajniji uticaj dodatne metil grupe na morfologiju hidrogelova, dok je uticaj udela IK izraženiji i odražava se na veću poroznost hidrogelova koji sadrže IK. Rezultati DSC analize pokazuju da PHPA i P(HPA/IK) hidrogelovi imaju veće T_g vrednosti u poređenju sa PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovima, što je u skladu sa literaturnim podacima T_g vrednosti PHEA (–10 do 7 °C) i PHPA (22 °C) [181-183,190].

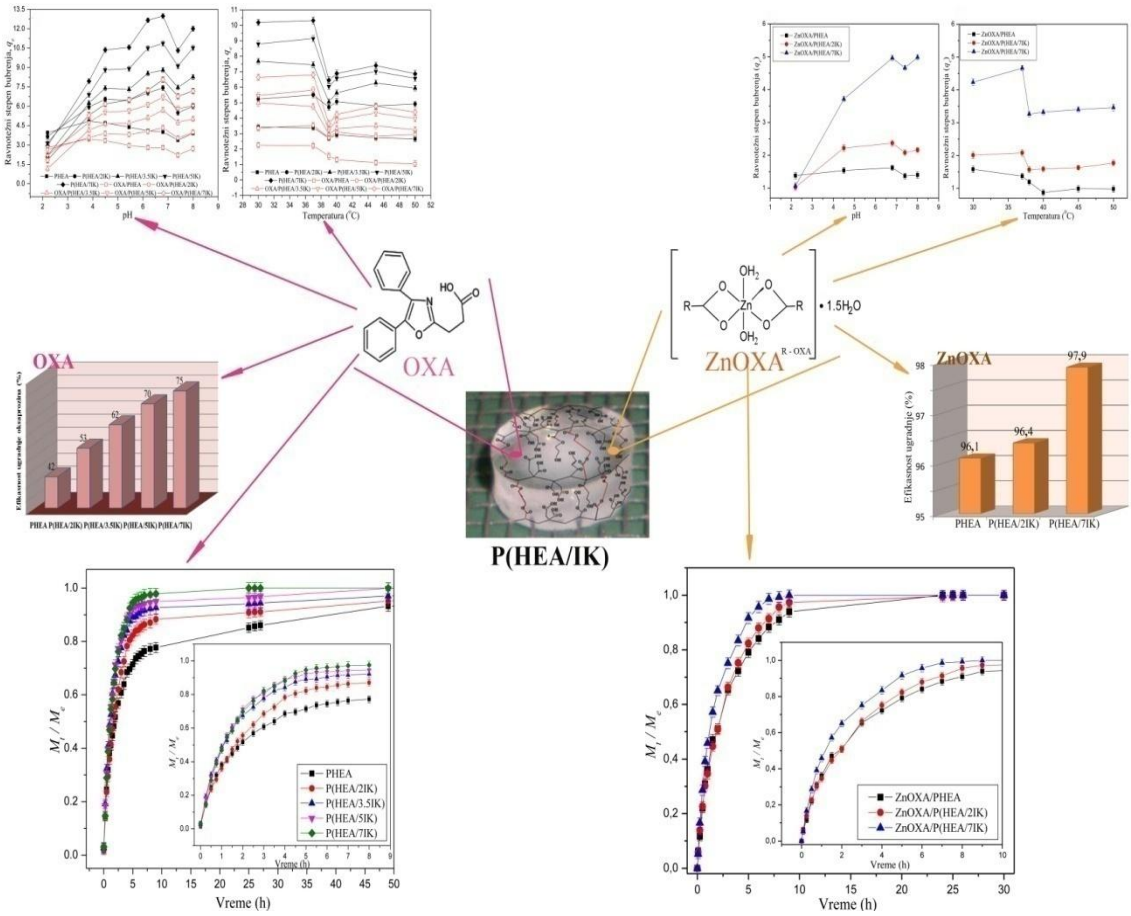
U daljem istraživanju, sintetisani hidrogelovi su ispitivani kao polimerne matrice za ugradnju i kontrolisano otpuštanje oksaprozina. Postignuta efikasnost ugradnje oksaprozina primenom ispitivanih hidrogelova ne ukazuje na značajan uticaj dodatne metil grupe u strukturi PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova na ovo svojstvo, dok je uticaj udela IK znatno izraženiji. Dobijeni profili otpuštanja oksaprozina u medijumu pH vrednosti 7,40, na 37 °C, pokazuju da se molekuli oksaprozina sporije otpuštaju iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u poređenju sa PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovima. Ovakvo ponašanje se može pripisati manjoj hidrofilnosti hidrogelova na bazi HPA, odnosno njihovom manjem kapacitetu bubrenja što ima za rezultat sporije otpuštanje aktivne supstance.

Prethodno navedeni eksperimentalno dobijeni podaci i njihova analiza ukazuju da sastav hidrogelova utiče na njihovo „inteligentno" ponašanje, morfologiju i termička svojstva, kao i na efikasnost ugradnje i kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Prisustvo dodatne metil grupe u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelovima ne utiče značajno na navedena svojstva hidrogelova, dok je uticaj sadržaja IK izraženiji.

4.5. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Pored ispitivanja uticaja sastava hidrogela na njegova svojstva kao polimerne matrice za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, ispitan je i uticaj tipa aktivne supstance na pH i temperaturnu osetljivost sintetisanih hidrogelova, kao i na efikasnost ugradnje i kontrolisano otpuštanje aktivne supstance. U tom cilju, u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove su ugrađene različite aktivne supstance: oksaprozin (OXA) i Zn(II)

kompleks sa oksaprozinom (ZnOXA) i ispitan je njihov uticaj na „inteligentno" ponašanje hidrogelova, kao i na efikasnost ugradnje i kontrolisano otpuštanje. Na Slici 76 su prikazani rezultati ispitivanja uticaja tipa aktivne supstance na svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.



Slika 76. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

Ispitivanjem bubrenja hidrogelova dobijeni su rezultati koji pokazuju da PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovi sa ugrađenim OXA imaju veći stepen bubrenja u poređenju sa istim hidrogelovima sa ugrađenim ZnOXA. ZnOXA je veći molekul u poređenju sa OXA, te kao takav znatno popunjava pore hidrogela i ometa pokretljivost polimernih lanaca što otežava penetraciju molekula fluida u polimernu mrežu i rezultira manjim kapacitetom bubrenja hidrogela sa ugrađenim ZnOXA. Međutim, ugradnja OXA kao i ZnOXA u P(HEA/IK) hidrogelove ne utiče na njihovu pH- i temperaturnu osetljivost.

Rezultati ispitivanja efikasnosti ugradnje OXA i ZnOXA u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelove pokazuju da je znatno veća efikasnost postignuta u slučaju ugradnje ZnOXA. Ugradnja OXA je izvršena u medijumu pH vrednosti 8,00 u kome je došlo do potpune jonizacije i OXA i karboksilnih grupa P(HEA/IK) hidrogelova. Usled elektrostatičkog odbijanja između nastalih istoimenih naelektrisanja, ugradnja OXA u P(HEA/IK) hidrogelove je otežana u poređenju sa ugradnjom ZnOXA. Ugradnja ZnOXA je izvršena difuzijom ZnOXA rastvorenog u smeši dimetil sulfoksid/pufer pH vrednosti 8,00 i ostvarena je efikasnost ugradnje preko 95 %.

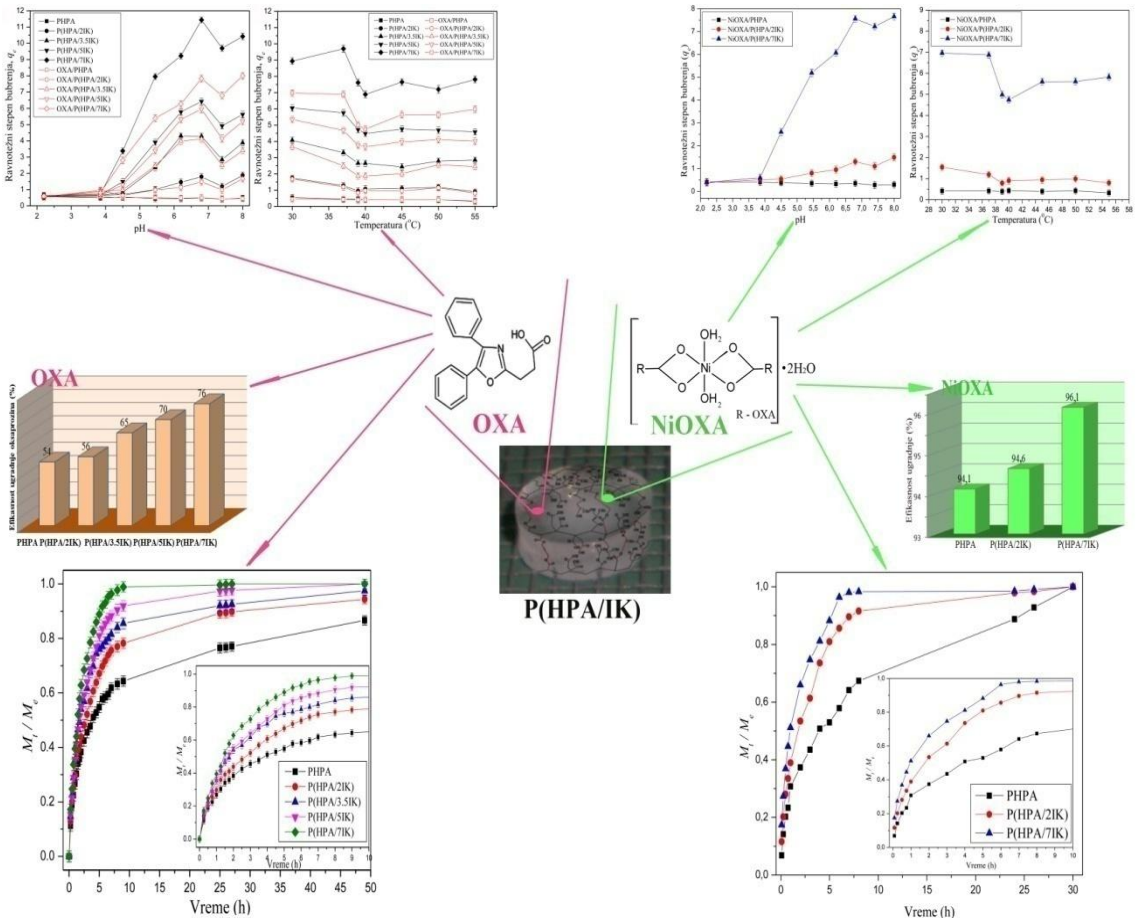
Dobijeni profili otpuštanja OXA i ZnOXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova u medijumu pH vrednosti 7,40, na 37 °C, pokazuju da je otpuštanje OXA iz PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova sporije u poređenju sa otpuštanjem ZnOXA. Ovakvo ponašanje se može dovesti u vezu sa količinom ugrađene aktivne supstance u ispitivane hidrogelove. S obzirom da je postignuta bolja efikasnost ugradnje ZnOXA u poređenju sa OXA time je i sadržaj ZnOXA veći u PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovima. Poznato je da uzorke sa većim sadržajem aktivne supstance karakteriše brže otpuštanje usled uspostavljanja većeg koncentracionog gradijenta između medijuma za otpuštanje i unutrašnjosti polimerne strukture.

Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da tip aktivne supstance, odnosno veličina molekula, njegova hidrofilnost i naelektrisanje, takođe utiču na svojstva PHEA i P(HEA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za ugradnju i kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

4.6. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva hidrogelova na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci

Uticaj tipa aktivne supstance na „inteligentno" ponašanje i svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci je takođe ispitan. U tu svhu su korišćene dve različite aktivne supstance: oksaprozin i Ni(II) kompleks sa oksaprozinom (NiOXA). Navedene supstance su ugrađene u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove i ispitana je pH i temperaturna osetljivost hidrogelova, efikasnost ugradnje, kao i kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

Dobijeni rezultati su prikazani na Slici 77 u vidu zavisnosti od tipa ugrađenog molekula aktivne supstance u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove.



Slika 77. Uticaj tipa aktivne supstance na svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

Ispitivanjem bubrenja hidrogelova u medijumima različitih pH vrednosti i temperature dobijeni su rezultati koji pokazuju da PHPA i P(HPA/IK) hidrogelovi sa ugrađenim OXA imaju neznatno veći stepen bubrenja u poređenju sa istim hidrogelovima sa ugrađenim NiOXA. NiOXA je veći molekul u poređenju sa OXA, te kao takav znatno više popunjava pore hidrogela, zauzima veći deo slobodne zapremine u polimernoj strukturi i na taj način ometa pokretljivost polimernih lanaca što otežava penetraciju molekula fluida u polimernu mrežu i rezultira manjim kapacitetom bubrenja hidrogela sa ugrađenim NiOXA. Međutim, ugradnja OXA kao i NiOXA u P(HPA/IK) hidrogelove ne utiče na njihovu pH- i temperaturnu osetljivost.

Rezultati određivanja efikasnosti ugradnje OXA i NiOXA u PHPA i P(HPA/IK) hidrogelove pokazuju da je znatno veća efikasnost ostvarena u slučaju ugradnje molekula NiOXA. Ugradnja OXA je izvršena u medijumu pH vrednosti 8,00 u kome je došlo do potpune jonizacije i OXA i karboksilnih grupa P(HPA/IK) hidrogelova. Usled elektrostatičkog odbijanja između nastalih istoimenih naelektrisanja, ugradnja OXA u P(HPA/IK) hidrogelove je otežana u poređenju sa ugradnjom NiOXA. Ugradnja NiOXA je izvršena difuzijom NiOXA rastvorenog u smeši dimetil sulfoksid/pufer pH vrednosti 8,00 i u tom slučaju ostvarena je efikasnost ugradnje preko 94 %.

Dobijeni profili otpuštanja OXA i NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova u medijumu pH vrednosti 7,40, na 37 °C, pokazuju da je otpuštanje OXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova sporije u poređenju sa otpuštanjem NiOXA. Dobijeni rezultati otpuštanja OXA i NiOXA iz PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova se mogu dovesti u vezu sa količinom ugrađene aktivne supstance u ispitivane hidrogelove. S obzirom da je postignuta bolja efikasnost ugradnje NiOXA u poređenju sa OXA time je i sadržaj NiOXA veći u PHPA i P(HPA/IK) hidrgelovima. Poznato je da uzorke sa većim sadržajem aktivne supstance karakteriše brže otpuštanje usled uspostavljanja većeg koncentracionog gradijenta između medijuma za otpuštanje i unutrašnjosti polimerne strukture.

Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da tip aktivne supstance, odnosno veličina molekula, njegova hidrofilnost i naelektrisanje, takođe utiču na svojstva PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova kao polimernih matrica za ugradnju i kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci.

5. ZAKLjUČAK

U cilju dizajniranja efikasnog sistema za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance – oksaprozin, sintetisane su dve serije hidrogelova reakcijom polimerizacije preko slobodnih radikala, na 50 °C u toku 24 h. Prvu seriju hidrogelova čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata i itakonske kiseline (P(HEA/IK)), dok drugu seriju čine hidrogelovi na bazi 2-hidroksipropil akrilata i itakonske kiseline (P(HPA/IK)). U obe serije hidrogelova variran je molski udeo itakonske kiseline (0,0; 2,0; 3,5; 5,0 i 7,0 mol % IK) kako bi se ispitao uticaj sastava hidrogela na njegova svojstva. Hidrofobna aktivna supstanca - oksaprozin je uspešno sintetisana i ugrađena u ispitivane hidrogelove metodom difuzije. Pored aktivne supstance – oksaprozin, ispitivan je i uticaj njegovih derivata (Ni(II) i Zn(II) kopleksa sa oksaprozinom (NiOXA i ZnOXA)) na svojstva hidrogelova kao polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. U cilju ispitivanja uticaja hemijskog sastava, kao i tipa aktivne supstance na svojstva sintetisanih hidrogelova, izvršena je analiza hemijske strukture, morfologije, termičkih svojstava, bubrenja i „inteligentnog“ ponašanja sintetisanih hidrogelova, pre i posle ugradnje aktivne supstance. Pored toga, ispitana je efikasnost ugradnje aktivnih supstanci u sintetisane hidrogelove i mogućnost njihove primene u vidu polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. S obzirom da terapija oksaprozinom podrazumeva uglavnom dugoročnu oralnu upotrebu oksaprozina i neretko je praćena ozbiljnim neželjenim efektima posebno izraženim u gornjem delu gastrointestinalnog trakta, osnovni cilj ove disertacije je dizajn polimerne matrice koja će sprečiti otpuštanje oksaprozina u kiseloj sredini želuca i na taj način redukovati ozbiljne neželjene efekte ovog leka ispoljene u segmentima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta. Iz tog razloga, otpuštanje oksaprozina iz sintetisanih polimernih matrica je ispitivano u medijumima pH vrednosti 2,20 i 7,40, na 37 °C. Dobijeni eksperimentalni podaci otpuštanja aktivne supstance u medijumu pH 7,40 su analizirani primenom: Higuči, Ritger-Pepas, Pepas- Sahlin i Pepas-Sahlin (m=0,5) modela.

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

Na osnovu dobijenih FT-IC spektara ustanovljena je uspešna homo- i kopolimerizacija sintetisanih hidrogelova, kao i uspešna ugradnja oksaprozina i njegovih derivata u sintetisane hidrogelove. Karakteristični pikovi sintetisanih

hidrogelova su oni koji potiču od vibracija –OH grupa na talasnom broju 3436 cm^{-1} (za PHEA hidrogel) i 3447 cm^{-1} (za PHPA hidrogel), vibracija karbonilne C=O grupe na 1729 cm^{-1}, alifatičnih C–H vibracija u opsegu 2900 – 3000 cm^{-1}, kao i od O–H vibracija karboksilnih grupa IK u oblasti 3700 – 3100 cm^{-1} (za hidrogelove sa IK). FT-IC spektri hidrogelova sa ugrađenim oksaprozinom pored navedenih karakterističnih pikova funkcionalnih grupa hidrogelova, pokazuju dodatni pik na talasnom broju između 1600 i 1590 cm^{-1} koji potiče od istezanja C=N veze molekula oksaprozina. FT-IC spektri hidrogelova sa ugrađenim Zn(II) i Ni(II) kompleksima oksaprozina pokazuju pikove u opsegu 450 – 440 cm^{-1} što odgovara vibracijama Zn–O odnosno Ni–O veza.

Rezultati SEM analize površine i poprečnog preseka sintetisanih hidrogelova bez i sa ugrađenim oksaprozinom pokazuju da sastav hidrogela, kao i ugrađena aktivna supstanca utiču na morfologiju hidrogelova. Uticaj dodatne metil grupe u PHPA i P(HPA/IK) u poređenju sa PHEA i P(HEA/IK) hidrogelovima, na njihovu morfologiju nije posebno izražen, dok je uticaj sadržaja IK evidentan. Veći sadržaj IK povećava poroznost hidrogelova, dok ugradnja aktivne supstance redukuje poroznu strukturu sintetisanih hidrogelova usled popunjavanja pora polimerne mreže.

Na osnovu rezultata diferencijalne skenirajuće kalorimetrije, može se zaključiti da hemijski sastav, kao i ugrađena aktivna supstanca utiču na termička svojstva sintetisanih hidrogelova i dovode do povećanja T_g vrednosti. Hidrogelovi na bazi HPA imaju veće T_g vrednosti u poređenju sa hidrogelovima na bazi HEA, što je u skladu sa literaturnim podacima T_g vrednosti PHEA (–10 do 7 °C) i PHPA (22 °C). Povećanje sadržaja IK kao i ugradnja aktivne supstance rezultiraju polimernim materijalom većih T_g vrednosti.

Rezultati analize naelektrisanja površine sintetisanih hidrogelova su pokazali da ugradnja oksaprozina dovodi do značajnije promene pH vrednosti tačke nultog naelektrisanja kod hidrogelova koji sadrže IK. Nastala promena pH vrednosti tačke nultog naelektrisanja se može pripisati većem afinitetu adsorpcije molekula oksaprozina na uzorcima koji sadrže IK u poređenju sa uzorcima bez IK.

Na stepen bubrenja i „inteligentno“ ponašanje hidrogelova utiču odabir i odnos polaznih monomera. Dodatna metil grupa u hidrogelovima na bazi HPA smanjuje njihovu hidrofilnost u poređenju sa hidrogelovima na bazi HEA, što ima za rezultat manji kapacitet bubrenja PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova. Povećanje sadržaja IK u

hidrogelovima povećava njihovu hidrofilnost a time i kapacitet bubrenja. P(HEA/IK) i P(HPA/IK) hidrogelovi su pokazali pH- i temperaturnu osetljivost, kao i reverzibilno ponašanje pri bubrenju u variranim uslovima pH i temperature, što ih čini odličnim kandidatima za izradu polimernih matrica za kontrolisano, kao i ciljano otpuštanje aktivnih supstanci. Ugradnja aktivnih supstanci u sintetisane hidrogelove ne utiče na njihovo „inteligentno“ ponašanje, ali smanjuje stepen bubrenja usled zauzimanja slobodnog prostora u polimernoj mreži i ometanja relaksacije polimernih lanaca. Rezultati bubrenja sintetisanih hidrogelova (pre i nakon ugradnje aktivne supstance) u pH uslovima koji simuliraju pH uslove gastrointestinalnog trakta, pokazuju da su sintetisani hidrogelovi pogodni kao matrice za kontrolisano otpuštanje aktivne supstance koju je potrebno zaštititi ili sprečiti (usled neželjenih efekata) njeno otpuštanje u kiseloj sredini želuca i omogućiti otpuštanje u donjem delu gastrointestinalnog trakta.

Postignuta efikasnost ugradnje oksaprozina primenom ispitivanih hidrogelova ne ukazuje na značajan uticaj dodatne metil grupe u strukturi PHPA i P(HPA/IK) hidrogelova na ovo svojstvo, dok je uticaj udela IK znatno izraženiji. Minimalna efikasnost ugradnje oksaprozina (42 i 54 %) je postignuta sa PHEA i PHPA hidrogelovima, dok su uzorci koji sadrže IK pokazali bolju efikasnost. Najbolja efikasnost ugradnje oksaprozina (75 i 76 %) je postignuta sa P(HEA/7IK) i P(HPA/7IK) hidrogelovima, usled njihovog većeg kapaciteta bubrenja u poređenju sa uzorcima koji sadrže manje IK.

Rezultati ispitivanja otpuštanja ukazuju na pH-osetljivo otpuštanje aktivnih supstanci iz sintetisanih hidrogelova. U kiseloj sredini (pH 2,20) ne dolazi do otpuštanja aktivne supstance, dok se u slabo baznom medijumu (pH 7,40) dobijaju različiti profili otpuštanja u zavisnosti od hemijskog sastava hidrogelova, kao i od količine ugrađene aktivne supstance. Uzorci sa najvećim sadržajem IK, koji su ujedno i uzorci sa najvećom količinom apsorbovane aktivne supstance, pokazali su najbrže otpuštanje aktivne supstance u medijumu pH 7,40, na 37 °C. Dobijeni rezultati pokazuju da se profili otpuštanja aktivnih supstanci mogu dizajnirati variranjem hemijskog sastava hidrogela, kao i količine ugrađene aktivne supstance.

Rezultati postignuti u okviru ove disertacije doprinose razvoju novih sofisticiranih sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, izrađenih na bazi

„inteligentnih“ polimera. Efikasnost ugradnje oksaprozina (preko 75 %) i njegovih derivata (preko 90 %), kao i dobijeni profili otpuštanja pokazuju da su sintetisani hidrogelovi pogodni kandidati za izradu polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci. Ispitivane polimerne matrice su naročito pogodne za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci koje je neophodno zaštititi ili onemogućiti njihovo otpuštanje (zbog nezeljenih efekata) u kiselim uslovima želuca i obezbediti njihovo otpuštanje u donjem delu gastrointestinalnog trakta. Profili otpuštanja dobijeni primenom ispitivanih sistema se mogu jednostavno dizajnirati odabirom tipa polaznih monomera, kao i variranjem njihovog odnosa. Primenom ispitivanih polimernih matrica za kontrolisano otpuštanje oksaprozina, moguće je sprečiti otpuštanje molekula oksaprozina u kiseloj sredini i na taj način prevazići problem nastanka ozbiljnih neželjenih efekata koje ova aktivna supstanca ispoljava na organima gornjeg dela gastrointestinalnog trakta. Specifična svojstva sintetisanih hidrogelova, ispitana i analizirana u okviru ove disertacije, čine polimerne sisteme na bazi 2-hidroksialkil akrilata i itakonske kiseline posebno interesantnim za buduća klinička ispitivanja, u cilju poboljšanja efikasnosti farmakoterapije i komplijanse, kao i prevencije neželjenih efekata aktivnih supstanci.

6. LITERATURA

[1] Sang C.L., Keun K., Kinan P., *Hydrogels for delivery of bioactive agents: A historial perspective.* Adv. Drug. Deliver. Rev. (2013) 65:17-20.

[2] Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H., *Hydrogels in pharmaceutical formulations*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (2000) 50:27-46.

[3] Yaszemski M., Trntolo D., Lewandrowski K-U., Hasirci V., Altobelli D., Wise D. (Eds.), *Tissue Engineering and Novel Delivery Systems*. CRC Press (2004) ISBN-13: 978-0824747862.

[4] Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E., *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine.* London: Elsevier Academic Press (2004) pp. 107-115.

[5] Zhang S., *Hydrogels: Wet or let die*. Nat. Mater. (2004) 3:7-8.

[6] Corkhill P.H., Hamilton C.J., Tighe B.J., *Synthetic hydrogels VI. Hydrogel composites as wound dressings and implant materials.* Biomaterials (1989) 10:3-10.

[7] Kiyonaka S., Sada K., Yoshimura I., Shinkai S., Kato N., Hamachi I., *Semi-wet peptide/protein array using supramolecular hydrogel.* Nat. Mater. (2004) 3:58- 64.

[8] Dergunov S., Mun G., *Gamma-irradiated chitosan-polyvinyl pyrolidone hydrogels as pH-sensitive protein delivery system*. Radiat. Phys. Chem. (2009) 78:65-68.

[9] Park J., Bae Y., *Hydrogels based on poly(ethylene oxide) and poly(tetramethylene oxide) or poly(dimethyl siloxane): synthesis, characterization, in vitro protein adsorption and platelet adhesion*. Biomaterials (2002) 23:1797-1808.

[10] Hennink W., van Nostrum C., *Novel crosslinking methods to design hydrogels.* Adv. Drug Deliver. Rev. (2002) 54:13-36.

[11] Daniel B., Fuat T., Juergen G., *Hydrogels in sensing application*. Prog. Polym. Sci. (2012) 37:1678-1719.

[12] Dumitriu S. (Ed.), *Polymeric Biomatrials.* (2002) Marcel Dekker, Inc., SBN: 0824705696, New York.

[13] Qiu Y., Park K., *Environment-sensitive hydrogels for drug delivery*. Adv. Drug. Deliver. Rev. (2002) 53:321-339.

[14] Peppas N.A., Khare A.R., *Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release.* Adv. Drug Deliver. Rev. (1993) 11:1-35.

[15] Kopecek J., *Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems.* Eur. J. Pharm. Sci. (2003) 16:1-16.

[16] De S.K., Aluru N.R., Johnson B., Crone W.C., Beebe D.J., Moore J., *Equilibrium Swelling and Kinetics of pH-Responsive Hydrogels: Models, Experiments, and Simulations.* J. Microelectromech. S. (2002) 11:544-555.

[17] Brannon-Peppas L., Peppas N.A, *Equilibrium swelling behavior of pH-sensitive hydrogels.* Chem. Eng. Sci. (1991) 46:715-722.

[18] Bae Y., Huh K., Kim Y., Park K., *Biodegradable amphiphilic multiblock copolymers and their implications for biomedical applications*. J. Control. Release (2000) 64:3-13.

[19] Mart R.J., Osborne R.D., Stevens M.M., Ulijn R.V., *Peptide-based stimuli-responsive biomaterials.* Soft Matter (2006) 2:822-835.

[20] de las Heras Alarcón C., Pennadam S., Alexander C., *Stimuli responsive polymers for biomedical applications.* Chem. Soc. Rev. (2005) 34:276-285.

[21] Eastoe J., Vesperinas A., *Photo-stabilised microemulsions*. Soft Matter. (2005) 5:338-347.

[22] Frey W., Meyer D.E., Chilkoti A., *Dynamic Addressing of a Surface Pattern by a Stimuli-Responsive Fusion Protein.* Adv. Mater. (2003) 15:248-251.

[23] Tasdelen B., Kayaman-Apohan N., Guven O., Baysal BM., *Preparation of poly(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels and their drug release behavior.* Int. J. Pharm. (2004) 278:343-351.

[24] Hennink W.E., van Nostrum C.F., *Novel crosslinking methods to design hydrogels.* Adv. Drug Deliv. Rev. (2002) 54:13-36.

[25] Hoare T.R., Kohane D.S., *Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges*. Polymer (2008) 49:1993-2007.

[26] Canal T., Peppas N.A., *Correlation between mesh size and equilibrium degree of swelling of polymeric networks.* J. Biomed. Mater. Res. (1989) 23:1183-1193.

[27] Gudeman L.F., Peppas N.A., *pH-sensitive membranes from poly (vinyl alcohol)/poly (acrylic acid) interpenetrating networks*. J. Membr. Sci. (1995) 107:239–248.

[28] Khare A.R., Peppas N.A., *Swelling/deswelling of anionic copolymer gels.* Biomaterials (1995) 16:559-567.

[29] Lin W-C., Yu D-G., Yang M-C., *pH-sensitive polyelectrolyte complex gel microspheres composed of chitosan/sodium tripolyphosphate/dextran sulfate: swelling kinetics and drug delivery properties.* Colloids. Surf. B (2005) 44:143-151.

[30] Crank J., *The Mathematics of Diffusion* – 2nd ed. (1975) Clarendon Press Oxford, United States by Oxford University Press Inc, New York.

[31] Ranga Rao K.V., Devi K.P., Buri P., *Cellulose matrices for zero-order release of soluble drugs*. Drug Dev. Ind. Pharm. (1988) 14:2299-2320.

[32] Munday D.L., Cox P.L., *Compressed xanthan and karaya gum matrices: hydration, erosion and drug release mechanisms.* Int. J. Pharm. (2000) 203:179-192.

[33] Peppas N.A., Huang Y., Torres-Lugo M., Ward J., Zhang J., *Physicochemical, foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology*. Annu. Rev. Biomed. Eng. (2000) 2:9-29.

[34] Kashyap N., Kumar N., Kumar R., *Smart gels for drug delivery applications*. Drug Development and Delivery (2004) 4:32-39.

[35] Bushetti S., Singh V., Raju S., *Stimuli sensitive hydrogels: A review.* Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research (2009) 43:241-250.

[36] Ende M., Peppas N.A., *Transport of ionizable drugs and proteins in crosslinked poly(acrylic acid) and poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels*. J. Appl. Polym. Sci. (1996) 59:673-685.

[37] Jabbari E., Nozari, S., *Synthesis of Acrylic Acid Hydrogel by γ-Irradiation Crosslinking of Polyacrylic Acid in Aqueous Solution*. Iran. Polym. J. (1999) 8:264-270.

[38] Baker J., Stephens D., Blanch H., Prausnitz J., *Swelling Equilibria for Acrylamide-Based Polyampholyte Hydrogels.* Macromolecules (1992) 25:1955-1958.

[39] Gupta P., Vermani K., Garg S., *Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery*. Drug Discov. Today (2002) 7:569-579.

[40] Schmaljohann D., Oswald J., Jorgensen B., Nitschke M., Beyerlein D., Werner C., *Thermo-responsive PNiAAm-g-PEG films for controlled cell detachment*. Biomacromolecules (2003) 4:1733-1739.

[41] Xue W., Hamley I.W., *Thermoreversible swelling behaviour of hydrogels based on N-isopropylacrylamide with a hydrophobic comonomer.* Polymer (2002) 43:3069-3077.

[42] Ruel-Gariepy E., Leroux J., *In situ-forming hydrogels - review of temperature-sensitive systems.* Eur. J. Pharm. Biopharm. (2004) 58:409-426.

[43] Zan J., Chen H., Jiang G., Lin Y., Ding F., *Preparation and properties of crosslinked chitosan thermosensitive hydrogel for injectable drug delivery systems*. J. Appl. Polym. Sci. (2006) 101:1892-1898.

[44] Hoffman A.S., *Hydrogels for biomedical applications*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2002) 43:3-12.

[45] Siegel R.A., Falamarzian M., Firestone B.A., Moxley B.C., *pH-Controlled release from hydrophobic/polyelectrolyte copolymer hydrogels.* J. Control. Release (1988) 8:179-182.

[46] Yoo M.K., Sung Y.K., Lee Y.M., Cho C.S., *Effect of polyelectrolyte on the lower critical solution temperature of poly(N-isopropyl acrylamide) in the poly(NIPAAm-co-acrylic acid) hydrogel.* Polymer (2000) 41:5713-5719.

[47] Gutowska A., Bark J.S., Kwon I.C., Bae Y.H., Cha Y., Kim S.W., *Squeezing hydrogels for controlled oral drug delivery.* J. Control. Release (1997) 48:141-148.

[48] Xia X., Hu Z., Marquez M., *Physically bonded nanoparticle networks: a novel drug delivery system.* J. Control. Release (2005) 103:21-30.

[49] Jones C.D., Lyon L.A., *Dependence of Shell Thickness on Core Compression in Acrylic Acid Modified Poly(Nisopropylacrylamide) Core/Shell Microgels.* Langmuir (2003) 19:4544-4547.

[50] Huo D., Yana L., Qian Q., Kobayashi T., *Temperature–pH sensitivity of bovine serum albumin protein-microgels based on cross-linked poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid).* Colloid. Surface. B (2006) 50:36-42.

[51] Yin X., Hoffman A.S., Stayton P.S., *Poly(N-isopropylacrylamide-co -propylacrylic acid) copolymers that respond sharply to temperature and pH*. Biomacromolecules (2006) 7:1381-1385.

[52] Taşdelen B., Kayaman-Apohan N., Güve O., Baysal, B.M., *pH-thermoreversible hydrogels. I. Synthesis and characterization of poly(Nisopropylacrylamide/ maleic acid) copolymeric hydrogels.* Radiat. Phys. Chem. (2004) 69:303-310.

[53] Gu J., Xia F., Wu Y., Qu X., Yang Z., Jiang L., *Programmable delivery of hydrophilic drug using dually responsive hydrogel*. J. Control. Release, (2007) 117:396-402.

[54] Langer R., Peppas N.A., *Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology*. ALChE Journal (2003) 49:2990-3006.

[55] Lowman A. M., Peppas N.A., Mathiowitz E. *Hydrogels.* Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. New York : John Wiley & Sons, (1999) Vols. 1-2, pp. 397-418.

[56] Jeong B., Gutowska A., *Lessons from nature: stimuliresponsive polymers and their biomedical applications*. Trends Biotechnol. (2002) 20:305-311.

[57] Lee K.Y., Mooney D.J., *Hydrogels for Tissue Engineering*. Chem. Rev. (2001) 101:1869-1881.

[58] Zhang X., Wu D., Chu C.-C., *Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex–MA/PNIPAAm hydrogels*. Biomaterials (2004) 25:4719-4730.

[59] Huang Y., Leobandung W., Foss A., Peppas N.A., *Molecular Aspects of muco- and bioadhesion:tethered structures and site-specific surfaces.* J. Control. Release (2000) 65:63-71.

[60] Torquato S., Yeong C.L.Y., *Universal scaling for diffusion-controlled reactions among traps.* J. Chem. Phys. (1997) 106:8814-8820.

[61] Sungwon K., Jong-Ho K., Oju J., Ick C.K., Kinam P., *Engineered polymers for advanced drug delivery*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (2009) 71:420-430.

[62] Scott. G. (Ed.), *Degradable Polymers-Principles and Applications - 2nd ed,* (2002) Kluwer Academic publishers.

[63] Davis K.A., Anseth K.S., *Controlled release from crosslinked degradable networks*. Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. (2002) 19:385-423.55.

[64] Lin C.-C., Metters A.T., *Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2006) 58:1379-1408.

[65] Schmaljohann D., *Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2006) 58:1655–1670.

[66] Brannon-Peppas L., *Polymers in controlled drug delivery*. In: Medical Plastics and Biomaterials, (1997) http://www.devicelink.com/mpb/archive/97/11/003.html.

[67] Hillery A.M., Lloyd A.W., Swarbrick J., (Eds.) *Drug delivery and targeting for pharmacists and pharmaceutical scientists.* (2005) Francis & Taylor, London.

[68] Swarbrick J., Boylan J.C., (Eds.), *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. (1990) Vol. 3, Marcel Dekker; New York.

[69] Dinarvand R., Sepehri N., Manoochehri S., Rouhani H., Atyabi F., *Polylactide-co-glycolide nanoparticles for controlled delivery of anticancer agents.* Int. J. Nanomedicine (2011) 6:877–895.

[70] Qian F., Szymanski A., Gao J., *Fabrication and characterization of controlled release poly(D,L-lactide-co-glycolide) milord*. J. Biomed. Mater. Res. (2001) 55:512-522.

[71] Bhal S.K., *Lipophilicity Descriptors: Understanding When to Use LogP & LogD*, Advanced Chemistry Development, Inc. Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com.

[72] Sood N., Bhardwai A., Mehta S., Mehta A., *Stimuli responsive hydrogels in drug delivery and tissue engineering.* Drug Deliv. (2015) DOI:10.3109/10717544.2014.940091.

[73] Tessmar J.K., Gopferich A.M., *Matrices and scaffolds for protein delivery in tissue engineering*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2007) 59:274–291.

[74] Holland T.A., Tessmar J.K., Tabata Y., Mikos A.G., *Transforming growth factor-beta 1 release from oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels in conditions thatmodel the cartilage wound healing environment.* J. Control. Release (2004) 94:101–114.

[75] Kohane D.S., Langer R., *Polymeric biomaterials in tissue engineering*. Pediatr. Res. (2008) 63:487–491.

[76] Zisch A.H., Lutolf M.P., Ehrbar M., Raeber G.P., Rizzi S.C., Davies N., Schmokel H., Bezuidenhout D., Djonov V., Zilla P., Hubbell J.A., *Cell-demanded release of VEGF from synthetic, biointeractive cell-ingrowth matrices for vascularized tissue growth*. FASEB J. (2003) 17:2260−20262.

[77] Lin, C.C., Anseth, K.S., *PEG hydrogels for the controlled release of biomolecules in regenerative medicine*. Pharm. Res. (2009) 26:631–643.

[78] Narayan B., Jonathan G., Miqin Z., *Chitosan based hydrogels for controlled, localized drug delivery.* Adv. Drug Deliver. Rev. (2010) 62:83-99.

[79] Kim S.W., Bae Y.H., Okano T., *Hydrogels: swelling, drug loading, and release*. Pharm. Res. (1992) 9:283–290.

[80] Sokker H.H., Ghaffar A.M.A., Gad Y.H., Aly A.S., *Synthesis and characterization of hydrogels based on grafted chitosan for the controlled drug release*. Carbohydr. Polym. (2009) 75:222–229.

[81] Ruel-Gariepy E., Shive M., Bichara A., Berrada M., Le Garrec D., Chenite A., Leroux J.C., *A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (2004) 57:53–63.

[82] Obara K., Ishihara M., Ozeki Y, Ishizuka T., Hayashi T., Nakamura S., Saito Y., Yura H., Matsui T., Hattori H., Takase B., Kikuchi M., Maehara T., *Controlled release of paclitaxel from photocrosslinked chitosan hydrogels and its subsequent effect on subcutaneous tumor growth in mice.* J. Control. Release (2005) 110:79–89.

[83] Simões S., Figueiras A., Veiga F., *Modular Hydrogels for Drug Delivery.* Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology (2012) 3:185-199.

[84] Kim B., Peppas N.A., *In vitro release behavior and stability of insulin in complexation hydrogels as oral drug delivery carriers.* Int. J. Pharm. (2003) 266:29–37.

[85] Mathiowitz E., Jacob J.S., Jong Y.S., Carino G.P., Chickering D.E., Chaturvedi P., Santos K.A., Vijayaraghavan K., Montgomery S., Bassett M., Morrell C., *Biologically erodable microspheres as potential oral drug delivery systems.* Nature (1997) 386:410-414, doi:10.1038/386410a0.

[86] Colombo P., *Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral rout. Modern Hydrogel Delivery Systems.* Adv. Drug Deliv. Rev. (1993) 11:37–57.

[87] Knuth K., Amiji M., Robinson J.R., *Hydrogel delivery systems for vaginal and oral applications: Formulation and biological considerations*. Adv. Drug Deliv. Rev. (1993) 11:137-167.

[88] Torres-Lugo M., Peppas N.A., *Molecular Design and in Vitro Studies of Novel pH-Sensitive Hydrogels for the Oral Delivery of Calcitonin.* Macromolecules (1999) 32:6646–6651.

[89] Omidian H., Park K., *Swelling agents and devices in oral drug delivery*. J Drug Deliv. Sci. Tec. (2008) 18:83–93.

[90] Morishita M., Peppas N.A., *Is the oral route possible for peptide and protein drug delivery*. Drug Discov. Today (2006) 11:905–910.

[91] Tao S.L., Desai T.A., *Gastrointestinal patch systems for oral drug delivery*. Drug Discov. Today (2005) 10:909–915.

[92] Colombo P., Sonvico F., Colombo G., Bettini R., *Novel Platforms for Oral Drug Delivery*. Pharmaceut. Res. (2009) 26:601-611.

[93] Sudhakar Y., Kuotsu K., Bandyopadhyay A.K., *Buccal bioadhesive drug delivery — A promising option for orally less efficient drug.* J. Control. Release (2006) 114:15–40.

[94] Nagai T., Machida Y., *Buccal delivery systems using hydrogels*. Adv. Drug Deliv. Rev. (1993) 11:179–191.

[95] Pignatello R., Basile L., Puglisi G., *Chitosan glutamate hydrogels with local anesthetic activity for buccal application.* Drug Deliv. (2009) 16:176-181.

[96] Martin L., Wilson C.G., Koosha F., Uchegbu I.F., *Sustained buccal delivery of the hydrophobic drug denbufylline using physically cross-linked palmitoyl glycol chitosan hydrogels.* J. Pharm. Biopharm. (2003) 55:35–45.

[97] Salamat-Miller N., Chittchang M., Johnston T.P., *The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery.* Adv. Drug Deliv. (2005) 57:1666–1169.

[98] Nagai T., Machida Y., Suzuki Y., Ikura H., *U.S. Patent* No. 4226848, 1980.

[99] Kitano M., Mitani Y., Takayama K., Nagai T., *Buccal absorption of golden hamster cheek in vitro and in vivo of 17b-estradiol from hydrogels containing three types of absorption enhancers*. Int. J. Pharm. (1998) 174:19-28.

[100] Patel V.R., Amiji M.M., *Preparation and characterization of freeze-dried chitosan poly(ethylene oxide) hydrogels for site-specific antibiotic delivery in the stomach*. Pharm. Res. (1996) 13:588-593.

[101] Gombotz W.R., Pettit D.K., *Biodegradable Polymers for Protein and Peptide Drug Delivery*. Bioconjugate Chem. (1995) 6:332–351..

[102] Lowman A.M., Morishita M., Kajita M., Nagai T., Peppas N.A., *Oral delivery of insulin using pH-responsive complexation gels*. J.Pharm. Sci. (1999) 88:933-937.

[103] Brùndsted H., Hovgaard L., Simonsen L., *Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery. II. Synthesis and characterization*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (1996) 42:85-89.

[104] Munjeri O., Collett J.H., Fell J.T., *Hydrogel beads based on amidated pectins for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release*. J. Control. Release (1997) 46:273-278.

[105] Vervoort L., Van den Mooter G., Augustijns P., Busson R., Toppet S., Kinget R., *Inulin hydrogels as carriers for colonic drug targeting. I. Synthesis and characterization of methacrylated inulin and hydrogel formation*. Pharm. Res. (1997) 14:1730-1737.

[106] Kakoulides E.P., Smart J.D., Tsibouklis J., *Azocross-linked poly (acrylic acid) for colonic delivery and adhesion specificity: synthesis and characterization*. J. Control. Release (1998) 52:291-300.

[107] Kushwaha S.K., Saxena P., Rai A., *Stimuli sensitive hydrogels for ophthalmic drug delivery: A review*. Int. J. Pharm. Investig. (2012) 2:54-60.

[108] Hu X., Hao L., Wang H., Yang X., Zhang G., Wang G., Zhang X., *Hydrogel Contact Lens for Extended Delivery of Ophthalmic Drugs*. Int. J. Polym. Sci. (2011) 2011:9, ID 814163, doi.org/10.1155/2011/814163.

[109] Gulsen D., Chauhan A., *Ophthalmic Drug Delivery through Contact Lenses*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. (2004) 45:2342-2347.

[110] Kim J., Conway A., Chauhan A., *Extended delivery of ophthalmic drugs by silicone hydrogel contact lenses.* Biomaterials (2008) 29:2259–2269.

[111] Gaudana R., Jwala J., Boddu S.H.S., Mitra A.K., *Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery.* Pharm. Res. (2009) 26:1197-1216.

[112] Valenta C., Auner B.G., *The use of polymers for dermal and transdermal delivery*. J. Pharm. Biopharm. (2004) 58:279–289.

[113] Fang J.Y., Sung K.C., Wang J.J., Chu C.C., Chen K.T., *The effects of iontophoresis and electroporation on transdermal delivery of buprenorphine from solutions and hydrogels*. J. Pharm. Pharmacol. (2002) 54:1329–1337.

[114] Cartwright R.G., Cartlidge P.H., Rutter N., Melia C.D., Davis S.S., *Transdermal delivery of theophylline to premature infants using a hydrogel disc system*. Br. J. Clin. Pharmacol. (1990) 29:533–539.

[115] Zhang I., Shung K.K., Edwards D.A., *Hydrogels with enhanced mass transfer for transdermal drug delivery.* J. Pharm. Sci. (1996) 85:1312–1316.

[116] Chen H., Mou D., Du D., Chang X., Zhu D., Liu J., Xu H., Yang X., *Hydrogel-thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at an extremely low concentration.* Inter. J. Pharm. (2007) 341:78–84.

[117] An N.M., Kim D,D., Shin Y.H., Lee C.H., *Development of a Novel Soft Hydrogel for the Transdermal Delivery of Testosterone.* Drug Dev. Ind. Pharm. (2003) 29:99-105.

[118] Don T.M., Huang M.L., Chiu A.C., Kuo K.H., Chiu W.Y., *Preparation of thermo-responsive acrylic hydrogels useful for the application in transdermal drug delivery systems.* Mater. Chem. Phys. (2008) 107:266–273.

[119] Özgüney I.S., Karasulu H.Y., Kantarci G., Sözer S., Güneri T., Ertan G., *Transdermal delivery of diclofenac sodium through rat skin from various formulations.* AAPS Pharm.Sci.Tech. (2006) 7:39-45.

[120] Lim H.J., Cho E.C., Lee J.A., Kim J., *A novel approach for the use of hyaluronic acid-based hydrogel nanoparticles as effective carriers for transdermal delivery systems*. Colloid Surface A (2012) 402:80–87.

[121] Suzuki Y., Iga K., Yanai S., Matsumoto Y., Kawase M., Fukuda T., Adachi H., Higo N., Ogawa Y., *Iontophoretic pulsatile transdermal delivery of human parathyroid hormone.* J. Pharm. Pharmacol. (2001) 53:1227–1234.

[122] Kuzma P., Moo-Young A.J, Mora D., Quandt H., Bardin C.W., Schlegel P.H., *Subcutaneous hydrogel reservoir system for controlled drug delivery*. Macromolecular Symposia (1996) 109:15–26.

[123] Matanović M.R., Grabnar I., Gosenca M., Grabnar P.A., *Prolonged subcutaneous delivery of low molecular weight heparin based on thermoresponsive hydrogels with chitosan nanocomplexes: Design, in vitro evaluation, and cytotoxicity studies*. Int J. Pharm. (2015) 488:127-35.

[124] Furtado S., Abramson D., Simhkay L., Wobbekind D., Mathiowitz E., *Subcutaneous delivery of insulin loaded poly(fumaric-co-sebacic anhydride) microspheres to type 1 diabetic rats.* Eur. J. Pharm. Biopharm. (2006) 63:229–236.

[125] Huynh D.P., Nguyen M.K., Pi B.S., Kim M.S., Chae S.Y., Lee K.C., Kim B.S., Kim S.W., Lee, D.S., *Functionalized injectable hydrogels for controlled insulin delivery*. Biomaterials (2008) 29:2527–2534.

[126] O`Brien W.M., *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs,* Pharmacology (1982) 25:1–8.

[127] Sinha V.R., Khosla L., *Bioabsorbable polymers for implantable therapeutic systems*. Drug Dev. Ind. Pharm. (1998) 24:1129-1138.

[128] Hennink W.E., Talsma H., Borchert J.C.H., De Smedt S.C., Demeester J., *Controlled release of proteins from dextran hydrogels.* J. Control. Release (1996) 39:47-55.

[129] Moriyama, K., Yui, N., *Regulated insulin release from biodegradable dextran hydrogels containing poly(ethylene glycol*). J. Control. Release (1996) 42:237-248.

[130] Lichtenstein D.R., Syngal S., Wolfe M.M., *Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the gastrointestinal tract: the double-edged sword*..Arthritis Rheum. (1995) 38:5-18.

[131] Wolfe M.M., Lichtenstein D.R., Singh G., *Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. N. Eng. J. Med. (1999) 340:1888-1899.

[132] Gabriel S.E., Jaakkimainen L., Bombardier C., *Risk for Serious Gastrointestinal Complications Related to Use of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: A Meta-analysis*. Ann. Intern. Med. (1991) 115:787-796.

[133] Silverstein F.E., Faich G., Goldstein J.L., Simon L.S., Pincus T., Whelton A., Makuch R., Eisen G., Agrawal N.M., Stenson W.F., Burr A.M., Zhao W.W., Kent J.D., Lefkowith J.B., Verburg K.M., Geis G.S., *Gastrointestinal Toxicity With Celecoxib vs Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs for Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis The CLASS Study: A Randomized Controlled Trial.* JAMA (2000) 284:1247-1255.

[134] Griffin M.R., Piper J.M., Daugherty J.R., Snowden M., Ray W.A., *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use and Increased Risk for Peptic Ulcer Disease in Elderly Persons.* Ann. Intern. Med. (1991) 114:257-263.

[135] Rodríguez L.G., Jick H., *Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with Individual non-steroidal anti-inflammatory drugs.* The Lancet (1994) 343:769–772.

[136] Hernández-Díaz S., Rodríguez L.A.G., *Association Between Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Upper Gastrointestinal Tract Bleeding/Perforation. An Overview of Epidemiologic Studies Published in the 1990s.* Arch. Intern. Med. (2000) 160:2093-2099.

[137] Attiga F.A., Fernandez P.M., Weeraratna A.T., Manyak M.J., Patierno S.R., *Inhibitors of prostaglandin synthesis inhibit human prostate tumor cell invasiveness and reduce the release of matrix metalloproteinases.* Cancer. Res. (2000) 60:4629–4637.

[138] Alberts D.S., Hixson L., Ahnen D., Bogert C., Einspahr J., Paranka N., Brendel K., Gross P.H., Pamukcu, R., Burt R.W., *Do NSAIDs exert their colon cancer chemoprevention activities through the inhibition of mucosal prostaglandin synthetase?.* J. Cell. Biochem. Suppl. (1995) 22:18–23.

[139] Lupulescu A., *Prostaglandins, their inhibitors and cancer.* Prostag. Leukotr. Ess. (1996) 54:83–94.

[140] Herschman H.R., *Prostaglandin synthese 2.* Biochim. Biophys. Acta, (1996) 1299:125–140.

[141] Beuk M., Angew M., *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs: A New Generation of Cyclooxygenase Inhibitors.* Chem. Int. Ed. (1999) 38:631–633.

[142] Davies N.M., Saleh J.Y., Skjodt N.M., *Detection and prevention of NSAID-induced enteropathy.* J. Pharm. Pharmaceut. Sci., (2000) 3:137–155.

[143] Singh G., Triadafilopoulus G., *Epidemiology of NSAID-induced GI complications*. J. Rheumatol. (1999) 26:18-24.

[144] Singh G., Ramey D.R., Morfeld D., Shi H., Hatoum H.T., Fries J.F., *Gastrointestinal tract complications of nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment in rheumatoid arthritis: a prospective observational cohort study*. Arch. Intern. Med. (1996) 156:1530-1536.

[145] Fennerty M.B., *NSAID-related gastrointestinal injury:Evidence based approach to a preventable complication.* Postgraduate medicine (2001) 110:87-88.

[146] Joksimović Z., *Nonsteroid antiinflamatory drugs and intestines*. Glasilo Podružnice Srpskog lekarskog društva Zaječar (2003) 28:79-85, UDK 615.276-06:616.3 ISSN 0350-2899.

[147] Merck Index, *An Encyclopedia of Chemical and Pharmaceuticals*. 13th ed., Merc &Co Inc Whitehouse station, New Jersey, (2005) pp 99-101.

[148] Brown K., Cavalla J.F., Green D., Wilson A.B., *Diaryloxazole and Diarylthiazolealkanoic Acids: Two Novel Series of Non-steroidal Anti-inflammatory Agents.* Nature (1968) 219:164.

[149] Winter L.Jr., *Clinical and Pharmacological Review of the Efficacy of Orphenadrine and Its Combination with Paracetamol in Painful Conditions.* J. Int. Med. Res. (1983) 11:308–314.

[150] Kean W.F., *Oxaprozin: kinetic and dynamic profile in the treatment of pain*. Curr. Med. Res. Opin. (2004) 20:1275–1277.

[151] http://www.medicinenet.com/oxaprozin/article.htm.

[152] Rothstein R., Am. J. Med. (1998) 105:39–43.

[153] Cornfort J.W., *Heterocyclic Compounds*. John Wiley and Sons, New York (1957) Vol 5, pp 312–313.

[154] Brown K., US Patent 3578671 (1971).

[155] http://www.drugbank.ca/drugs/DB00991.

[156] Yazdanian M., Briggs K., Jankovsky C., Hawi A., *The high solubility definition of the current FDA guidance on biopharmaceutical classification system may be too strict for acidic drugs.* Pharm. Res. (2004) 21:293–299.

[157] Seda G.S., Asli E., *Theoretical and vibrational studies of 4,5- diphenyl-2-2 oxazole propionic acid (oxaprozin)*. Spectrochim Acta A (2010) 75:1370–1376.

[158] Božić Đ.B., *Sinteza, struktura i svojstva potencijalno biološki aktivnih derivata propionske kiseline,* doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet, Beograd (2013).

[159] Ottonello L., Bertolloto M., Montecucco F., Bianchi G., Callegri F., *Delayed apoptosis of human monocytes exposed to immune complexes is reversed by oxaprozin: role of the Akt/IκB kinase/nuclear factor κB pathway.* Brit. J. Pharmacol. (2009) 157:294–306.

[160] Dallegri F., Bertolotto M., Ottonello L., *A review of the emerging profile of the anti-inflammatory drug oxaprozin.* Expert Opin. Pharmacother. (2005) 6:777–785.

[161] Davies N.M., *Clinical pharmacokinetics of oxaprozin.* Clin. Pharmacokinet. (1998) 35:425–436.

[162] Kethu S.R., Rukkanagari S., Lansford C.L., *Oxaprozin-induced symptomatic hepatotoxicity.* Ann. Pharmacother. (1999) 33:942–944.

[163] Kivitz A.J., Makarowski W.S., Fiechtner J.J., Recker D.P., *A Flexible Daily Dosage Regimen of Oxaprozin Potassium in Patients with Acute Knee Pain Associated with Osteoarthritis.* Clinical Drug Investigation (2001) 21:745-753.

[164] http://www.chemicalbook.com/.

[165] http://www.inchem.org/.

[166] Patty F. (ed.). *Industrial Hygiene and Toxicology*: Volume II: Toxicology. 2nd ed. New York: Interscience Publishers (1963) p. 1811.

[167] Weast R.C. (ed.). *Handbook of Chemistry and Physics*. 60th ed. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc. C (1979) p. 503.

[168] http://www.sigmaaldrich.com/

[169] Wu C.L., He H., Gao H.J., Liu G., Ma R.J., An Y.L., Shi L.Q., *Synthesis of $Fe_3O_4[SiO_2]$polymer nanoparticles for controlled drug release*. Sci. China. Chem. (2010) 53:514–518.

[170] Babić M.M., Antić K.M., Vuković J.J.S., Božić B.Đ., Davidović S.Z., Filipović J.M., Tomić S.Lj., *Oxaprozin/poly(2-hydroxyethyl acrylate/itaconic acid) hydrogels: morphological, thermal, swelling, drug release and antibacterial properties*. J. Mater. Sci. (2015) 50:906–922.

[171] Bell C.L., Peppas N.A., *Measurement of swelling force in ionic polymer networks. III. Swelling force of interpolymer complexes.* J. Control. Release (1995) 37:277–280.

[172] Peppas N.A., *Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymer.* Pharm. Acta. Helv. (1985) 60:110–111.

[173] Elechiguerra J.L., Burt J.L., Morones J.R., Camacho-Brabado A., Gao X., Lara H.H., Yacaman M.J., *Interaction of silver nanoparticles with HIV-1.* J. Nanobiotechnol. (2005) 3:1–10.

[174] Harland R.S., Peppas N.A., *Solute diffusion in swollen membranes*. Polym. Bull. (1987) 18:553–556.

[175] Mall I.D., Srivastava V.C., Kumar G.V.A., Mishra I.M., *Characterization and utilization of mesoporous fertilizer plant waste carbon for adsorptive removal of dyes from aqueous solution.* Colloid. Surface A (2006) 278:175–187.

[176] Wang X.F., Sun X.W., Liu W.X., Gong B.Y., Gao N.B., *Chitosan hydrogel beads for fulvic acid adsorption: behaviors and mechanisms.* Chem. Eng. J. (2008) 142:239–247.

[177] Higuchi T., *Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in soled matrices*. J. Pharm. Sci. (1963) 52:1145–1148.

[178] Peppas N.A., Sahlin J.J., *A simple equation for the description of solute release III. Coupling of diffusion and relaxation.* Int. J. Pharm. (1989) 57:169–172.

[179] Yamoaka K., Nakagawa T., Uno, T., *Application of the Akaike information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetics equations*. J. Pharmacokinet. Biopharm. (1978) 6:165–175

[180] Tomić S.Lj., Dimitrijević S.I., Marinković A.D., Najman S., Filipović J.M., *Synthesis and characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) copolymeric hydrogel.* Polym. Bull. (2009) 63:837–851.

[181] Aran B., Sankir M., Vargun E., Sankir N.D., Usanmaz A., *Tailoring the swelling and glasstransition temperature of acrylonitrile/hydroxyethyl acrylate copolymers.* J. Appl. Polym. Sci. (2010) 116:628–635.

[182] Spanoudaki A., Fragiadakis D., Vartzelinikaki K., Pissis P., Rodriguez Hernandez J.C., Monleon-Pradas M., *Nanostructured and nanocomposite hydrogels for biomedical applications*. In: Blitz JP, Gunko VM (eds) Surface chemistry in biomedical and environmental science. Springer, Berlin, (2006) pp 229–240.

[183] Gomez-Ribelles J.L., Monleon-Pradas M., Gallego-Ferrer G., Peidro-Torres N., Perez-Gimenez V., Pissis P., Kyritsis A.J., *Poly(methyl acrylate)/poly(hydroxyethyl acrylate) sequential interpenetrating polymer networks. Miscibility and water sorption behavior*. Poly. Sci. Part B Pol. Phys. (1999) 37:1587–1599.

[184] Caykara T., Ozyurek C., Kantoglu O., *Investigation of thermal behavior of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-itaconic acid) networks.* J. Appl. Polym. Sci. (2007) 103:1602–1160.

[185] Peppas N.A., Buri P.A., *Surface, intrerfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues.* J. Control. Release (1985) 2:257–275.

[186] Pechenyuk S.I., *The use of the pH at the point of zero charge for characterizing the properties of oxide hydroxides*. Russ. Chem. B (1999) 48:1017–1023.

[187] Asmarandei I., Fundueanu G., Cristea M., Harabagiu V., Constantin, M., *Thermo- and pH.sensitive interpenetrating poly(Nisopropylacrylamide)/carboxymethyl pullulan network for drug delivery.* J. Polym. Res. (2013) 20:293–306.

[188] He H., Cao X., Lee L.J., *Design of a novel hydrogel-based intelligent system for controlled drug release.* J. Control. Release (2004) 95:391–402.

[189] Ruan G., Feng S.S., *Preparation and characterization of poly(lactic-acid)-poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid)(PLAPEG- PLA) microspheres for controlled release of paclitaxel.* Biomaterials (2003) 24:5037–5044.

[190] Eggenhuisen T.M., Becer C.R., Fijten M.W.M., Eckardt R., Hoogenboom R., Schubert U.S., *Libraries of Statistical Hydroxypropyl Acrylate Containing Copolymers with LCST Properties Prepared by NMP*, Eggenhuisen, *Libraries of Statistical Hydroxypropyl Acrylate Containing Copolymers with LCST Properties Prepared by NMP*. Macromolecules (2008) 41:5132-5140.

[191] Taylor L.D., Cerankowski L.D., *Preparation of films exhibiting a balanced temperature dependence to permeation of aqueous solutions-a study of lower consolute behavior.* J. Polym. Sci. (1975) 13:2551–2570.

[192] Sadaf Y., Saqib A., Bushra M., Fiaz A., Saira S., *Interaction of naproxen with transition metals: synthesis, characterization, antiinflammatory activity and kinetic studies*. J. Coord. Chem. (2009) 62:3463–3470.

[193] Babić M.M., Božić B.Đ, Božić B.Đ., Filipović J.M., Ušćumlić G.S., Tomić S.Lj., *Evaluation of novel antiproliferative controlled drug delivery system based on poly(2-*

hydroxypropyl acrylate/itaconic acid) hydrogels and nickel complex with Oxaprozin. Mater. Lett. (2016) 163:214-217.

[194] Babić M.M., Božić B.Đ, Božić B.Đ., Filipović J.M., Ušćumlić G.S., Tomić S.Lj., *Evaluation of poly(hydroxyethyl acrylate/itaconic acid) hydrogels for controlled delivery of transition metal complexes with Oxaprozin as potential antiproliferative agent.* J.Mater.Sci. (2015) 50:6208-6219.

[195] Božić B.Đ., Rogan J.R., Poleti D.D., Trišović N.P., Božić B.Đ., Ušćumlić G.S., *Synthesis, Characterization and Antiproliferative Activity of Transition Metal Complexes with 3-(4,5-Diphenyl-1,3-oxazol-2-yl)propanoic Acid (Oxaprozin).* Chem. Pharm. Bull. (2012) 60:865–869.

[196] Babić M.M., Antić K.M., Vuković J.J.S., Božić B.Đ., Perišić M.D., Filipović J.M., Tomić S.Lj., *Design of novel multifunctional Oxaprozin delivery system based on dual-sensitive poly(2-hydroxypropyl acrylate/itaconic acid) hydrogel*. Mater. Lett. (2014) 147:64-68.

7. BIOGRAFIJA KANDIDATA

Marija Babić rođena je 31.03.1984. godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i XII beogradsku gimnaziju „Dimitrije Tucović“. Diplomirala je 2010. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na katedri za Organsku hemijsku tehnologiju, sa prosečnom ocenom tokom studija 8.33. Specijalističke akademske studije završila je na Farmaceutskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, 2013. godine sa prosečnom ocenom 10.0. Školske 2010/2011 godine upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na studijskom programu Hemijsko inženjerstvo, na Katedri za Organsku hemijsku tehnologiju.

Marija Babić je od 2010. godine angažovana na dva naučno-istraživačka projekta u oblasti osnovnih istraživanja: „Sinteza i karakterizacija novih funkcionalnih polimera i polimernih nanokompozita“ (OI 172062) i „Dinamika nelinearnih fizičkohemijskih i biohemijskih sistema sa modeliranjem i predviđanjem njihovih ponašanja pod neravnotežnim uslovima“ (OI 172015), koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Od 2014. godine je angažovana na međunarodnom projektu (rukovodilac prof. dr Simonida Tomić): „Intelligent scaffolds as a Tool for Advanced Tissue Regeneration” (Serbia-Slovenia-Switzerland, SCOPES – Swiss National Science Foundation).

Marija Babić je koautor osam radova objavljenih u međunarodnim časopisima (M21 – 6 radova, M22 – 1 rad, M23 – 1 rad), devet radova saopštenih na međunarodnim skupovima i jednog rada saopštenog na nacionalnom skupu. Iz oblasti istraživanja iz koje je predložena tema doktorske disertacije, kandidat je prvi autor četiri naučna rada objavljena u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21) i dva saopštenja na međunarodnim skupovima.

8. IZJAVA O AUTORSTVU

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a MARIJA BABIĆ

Broj indeksa 4080/2010

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

"SINTEZA I KARAKTERIZACIJA POLIMERNIH MATRICA NA BAZI 2-HIDROKSIALKIL AKRILATA I ITAKONSKE KISELINE ZA KONTROLISANO OTPUŠTANJE OKSAPROZINA"

- 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.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 12.01.2016.

9. IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE VERZIJE I ELEKTRONSKE VERZIJE

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora MARIJA BABIĆ

Broj indeksa 4080/2010

Studijski program TEHNOLOŠKO INŽENJERSTVO, UŽA NAUČNA OBLAST - HEMIJSKO INŽENJERSTVO

Naslov rada "SINTEZA I KARAKTERIZACIJA POLIMERNIH MATRICA NA BAZI 2-HIDROKSIETIL AKRILATA I ITAKONSKE KISELINE ZA KONTROLISANO OTPUŠTANJE OKSAPROZINA"

Mentor PROF. DR SIMONIDA TOMIĆ

Potpisani/a MARIJA BABIĆ

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.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 12.01.2016.

10. 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 POLIMERNIH MATRICA NA BAZI 2-HIDROKSIALKIL AKRILATA I ITAKONSKE KISELINE ZA KONTROLISANO OTPUŠTANJE OKSAPROZINA "

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 poleđini lista).

U Beogradu, 12.01.2016.

Potpis doktoranda

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, distibuciju 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, distibuciju 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.