

(19) REPUBLIKA SRBIJA (12) **Prijava patenta** (11) **P-2019/0959 A2**



ZAVOD ZA
INTELEKTUALNU SVOJINU
BEOGRAD

(51) Int. Cl.
C08F 220/00 (2006.01)
C08F 2/04 (2006.01)
C08F 2/10 (2006.01)
C08F 2/16 (2006.01)
C08F 220/06 (2006.01)
C08F 220/56 (2006.01)
C08L 33/26 (2006.01)

(21) Broj prijave: **P-2019/0959**
(22) Datum podnošenja prijave: **23.07.2019.**
(43) Datum objavljivanja prijave: **29.11.2019.**

(73) Podnosilac prijave patenta:
UNIVERZITET U NIŠU,
TEHNOLOŠKI FAKULTET,
Bulevar oslobođenja 124,
16000 Leskovac, RS

(72) Pronalazači:
ZDRAVKOVIĆ, Aleksandar;
ILIĆ-STOJANOVIĆ, Snežana;
NIKOLIĆ, Ljubiša;
UROŠEVIĆ, Maja;
NIKOLIĆ, Vesna

(54) Naziv pronalaska: **POSTUPAK SINTEZE TERMO- I PH-OSETLJIVIH KOPOLIMERNIH HIDROGELOVA**

(57) Apstrakt:

Pronalazak je iz oblasti polimernih proizvoda i odnosi se na novi postupak dobijanja kopolimernih hidrogelova osetljivih na promene temperature i pH vrednosti. Radikalnom polimerizacijom monomera N-izopropilakrilamida i metakrilne kiseline u prisustvu adekvatnih umreživača i inicijatora, sintetisani su hidrogelovi poli(N-izopropilakrilamid-ko-metakrilna kiselina), p(NiPAAm/MAC), kao savremeni apsorberi za velike količine fluida.

P-2019/0959 A2

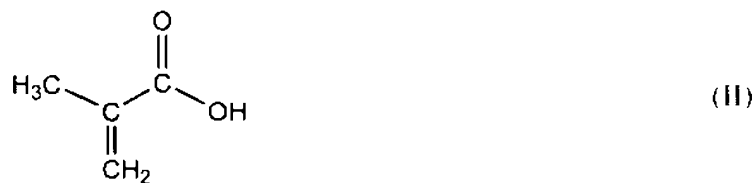
POSTUPAK SINTEZE TERMO-1 pH- OSETLJIVIH KOPOLIMERNIH HIDROGELOVA

OBLAST TEHNIKE

Predmetni pronalazak je iz oblasti polimernih proizvoda i odnosi se na novi postupak sinteze kopolimernih hidrogelova osetljivih na promene pH vrednosti i temperature primenom metode radikalne polimerizacije. Reakcijom monomera A-izopropilakrilamida, strukturne formule I



i komonomera metakrilne kiseline, strukturne formule II



u prisustvu adekvatnih umreživača i inicijatora, sintetisani su hidrogelovi poli(V- izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina), p(NIPAM/MAc), kao savremeni apsorberi za velike količine različitih fluida.

TEHNIČKI PROBLEM

Predmetnim pronalaskom rešava se problem dobijanja hidrogelova osetljivih na promene temperature i pH vrednosti, na bazi *N*-izopropilakrilamida i metakrilne kiseline, sa neočekivano visokim kapacitetom bubrenja i kraćim vremenom apsorpcije okolnog fluida. Hidrogelovi poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina), p(NIPAM/MAC), su sintetisani postupkom radikalne polimerizacije na povišenoj temperaturi i okarakterisani su sledećim metodama: infracrvenom spektroskopijom sa Furijeovom transformacijom (FTIR), difrakcijom X-zraka (XRD) i skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM). Sadržaj rezidualnih reaktanata određen je primenom metode tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC). Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) se mogu klasifikovati kao superapsorbujući polimeri (SAPs), u zavisnosti od pH vrednosti i temperature okolnog fluida. U dostupnom stanju tehnike sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) postižu manje kapacitete bubrenja i apsorpcije fluida. Hidrogelovi p(NIPAM/MAC) nakon liofilizacije u rastvoru pH 6 na 25 °C brže dostižu ravnotežne stepene bubrenja u poređenju sa ne-liofilizovanim uzorcima.

STANJE TEHNIKE

Hidrogelovi predstavljaju klasu makromolekula sa jedinstvenim svojstvom da apsorbuju velike količine vode ili bioloških fluida unutar svoje strukture, pri čemu bubre, ali se ne rastvaraju. Mogu se dobiti iz prirodnih polimera ili sintetisati iz hidrofilnih monomera. Pogodni su za upotrebu u biološke i medicinske svrhe zbog svojstava koja su slična biološkim tkivima (Kashyap et al. Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst.* 22(2) (2005) 107-150; Jagur-Grodzinski. Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications. *Polym. Adv. Technol.* 21 (2010) 27-47; Chaterji et al. Smart Polymeric Gels: Redefining the Limits of Biomedical Devices. *Progr. Polym. Sci.* 32(8- 9) (2007) 1083-1122). Posebnu klasu predstavljaju hidrogelovi osetljivi na spoljne stimulanse koji reaguju na promene pH, temperature i jonske jačine, pri čemu dolazi do promena u strukturi mreže hidrogelova, npr. svojstava bubrenja (Peppas, Physiologically responsive gels. *J. Bioact. Compat. Polym.* 6 (1991) 241 -246).

Hidrogelovi dobijeni iz prirodnih polimera poseduju biokompatibilnost i biodegradabilnost, ali nemaju dobra mehanička svojstva, mogu da sadrže patogene ili da izazovu imuno/inflamatoran odgovor. Sintetički hidrogelovi imaju dobro definisanu strukturu koja se može modifikovati da se postignu bioaktivna svojstva, degradabilnost i funkcionalnost. Pogodan izbor monomera za sintezu hidrogelova omogućava dizajniranje hemijske strukture hidrogelova i njihovih svojstava (Hoffman. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54(2002) 3-12; Peppas. Hydrogels in Medicine and Pharmacy, Vol. 1. Fundamentals. (1986) Boca Raton, FL:CRC Press). Hidrogelovi se mogu dobiti najpre polimerizacijom monomera u linearni polimer i zatim umrežavanjem do željenog proizvoda. Drugi način je istovremena polimerizacije i umrežavanja. Umreženi polimeri bubre u odgovarajućim rastvaračima.

Hidrogelovi osetljivi na spoljne stimulanse pokazuju značajne promene pri bubrenju. promeni oblika, mehaničkih svojstava usled promena u spoljašnjoj sredini (temperature, pH sredine, jonske jačine, UV zračenja, svetlosti, magnetnog ili električnog polja, itd.). Stepem bubrenja hidrogelova može da se definiše kao maseni ili kao zapreminski. Maseni stepen bubrenja je odnos mase nabubrelog gela prema masi suvog uzorka.

Zapreminski stepen bubrenja je odnos zapremine apsorbovanog rastvora prema zapremini suvog uzorka (Pepas al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **50** (2000) 27-46; Yin et al. Swelling behavior of hydrogels for colon-site drug deliver. *J. Appl Polym. Sci.* **83** (2002) 2835-2842; Andersson et al. Swelling kinetics of poly(*N*-isopropylacrylamide) gel. *J. Controll. Rel.* **50** (1998) 273-281). Na bubrenje hidrogelova utiče hemijski sastav, konformacija, stepen umreženja, fleksibilnost polimernih lanaca, prisustvo jonizujućih grupa, stepen jonizacije tih grupa i interakcije sa vodom. Hidrogelovi koji sadrže hidrofilne grupe pokazuju veći kapacitet bubrenja u odnosu na hidrogelove sa hidrofobnim grupama. Bubrenje jonskih hidrogelova zavisi od pH vrednosti sredine (Tanaka et al. Novel hydrogels with excellent mechanical performance. *Prog. Polym. Sci.* **30** (2005) 1-9; Kalagasidis Krušić. (2007). Hidrogelovi i kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci, Zadužbina Andrejević, Beograd). Zbog hidrofilnosti, netoksičnosti i biokompatibilnosti, hidrogelovi imaju značajnu primenu u medicini, farmaciji i poljoprivredi (Ratner and Hoffman. Hydrogels for Medical and Related Applications (1976). Andrade and Andrade (eds.) American Chemical Society, Washington DC, 1-36).

U dostupnoj naučnoj i patentnoj literaturi postoji veći broj radova koji razmatraju različite načine sinteze i primene hidrogelova na bazi *N*-izopropilakrilamida, NIPAM-a, i metakrilne kiseline, MAc. Analizom dostupne literature sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAc) postižu manje kapacitete bubrenja i apsorpcije fluida.

Velada i saradnici su sintetisali slobodnom radikalnom polimerizacijom hidrogelove na bazi NIPAM-a i AAc ili MAc, sa različitim molskim odnosom monomera i različitim sadržajem umreživača. Ispitivan je uticaj različite pH vrednosti (1, 5,7 i 12) na karakteristike bubrenja hidrogelova (Velada. Effect of pH on the swelling behaviour of hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide with acidic comonomers. *Macromol. Chem. Phys.* **199**(6) (1998) 1 127 1134).

Hidrogelovi na bazi NIPAM-a i MAc sintetisani primenom umreživača tetraetilenglikol dimetilakrilata ispitivani su na promenu temperature (18-49 °C). Temperaturna osetljivost kopolimera p(NIPAM/MAc) je veoma blaga do 70% molskog sadržaja NIPAM-a u strukturi. Veća osetljivost je uočena kod hidrogelova sa većim molskim sadržajem monomera NIPAM-a u strukturi kopolimera p(NIPAM/MAc) (Prior-Cabanillas et al. Influence of the swelling history on the swelling kinetics of stimuli-responsive poly [(*N*-isopropylacrylamide)- co-(methacrylic acid)] hydrogels. *Polym.* **46**(3) (2005) 685-693).

Vodonična veza između amidne i karboksilne grupe značajno utiče na termička svojstva kopolimera p(NIPAM/MAC). Kopolimeri p(NIPAM/MAC) sa većim udelom komonomera MAC imaju relativno bolju termičku stabilnost u odnosu na hidrogelove sa većim sadržajem NIPAM-a. (Díez-Peña et al. Hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide and methacrylic acid: thermal stability and glass transition behaviour. *Polym. Bull.* **48**(1) (2002) 83-91).

UV fotopolimerizacionim metodom u rastvoru su dobijeni hidrogelovi p(NIPAM/MAC) primenom biorazgradivog umreživača poli(etilen glikol)-*ko*-poli(ϵ -kaprolaktona). Hidrolitička razgradnja kopolimera p(NIPAM/MAC) na pH 7,4 vrši se raskidanjem labilnih estarskih veza. Povećanjem sadržaja MAC u hidrogelovima povećava se hidrolitička razgradnja kopolimera. Veća apsorpcija i širenje polimerne mreže rezultat je većeg broja jonizovanih karboksilnih grupa između kojih se javljaju elektrostatičke interakcije na pH 7,4. (Zhao et al. Synthesis and properties of biodegradable thermo-and pH-sensitive poly[(*N*-isopropylacrylamide)-*co*- (methacrylic acid)] hydrogels. *Polym. Degrad. Stab.* **95**(5) (2010) 719-724.).

U radu Qi i saradnika porozna struktura hidrogela p(NIPAM/MAC) u nabubreloj stanju je regularna sa ujednačenijim rasporedom pora veličine $28,3 \pm 7,5 \mu\text{m}$ (Qi et al. Development of novel hydrogels based on Salecan and poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) for controlled doxorubicin release. *RSC Adv.* **6**(74) (2016) 69869-69881). U matriksu semi- interpenetrirajućih polimernih mreža, semi-IPN, poli(*N*-izopropilakrilamid-Az>-metakrilna kiselina) je inkorporisan hidrofilni polisaharid (1,3)- β -D-glukan, Salecan. On je modifikovao arhitekturu i veličinu pora semi-IPN mreže p(NIPAM/MAC), a pored toga je imao ulogu u modulaciji sadržaja vode i brzini njenog oslobađanja iz hidrogela, što je omogućilo kontrolisanje brzine oslobađanja leka doksorubicina.

Ispitivane su karakteristike semi-interpenetrirajućih polimernih mreža NIPAM-a, hitozana, itakonske kiseline i metakrilne kiseline (Milašinović et al. Hydrogels of *N*- isopropylacrylamide copolymers with controlled release of a model protein. *Int. J. Pharm.* **383** (2010) 53-61).

Interpenetrirajuće polimerne mreže (IPN) hidrogelova na bazi termoosetljivog pNIPAM-a i pH osetljive poli(metakrilne kiseline), pMAC, su pripremljene postupkom sekvencijalne UV polimerizacije u metanolu (40/60 v/v) sa 1 mol% umreživača tetraetilenglikoldimetilakrilata i 1 mas% inicijatora 2,2-dimetoksi-2-fenilacetofenona. Dobijeni hidrogelovi pokazuju kombinovanu pH i temperaturnu osetljivost u opsegu temperature 31-32 °C i pH vrednosti oko 5,5.

Ravnotežni stepen bubrenja iznosi oko 9 u rastvoru pH vrednosti 6,16 na 20 °C i opada do 3,4 na 32 °C (Zhang and Peppas. Synthesis and characterization of pH- and temperature-sensitive poly(methacrylic acid)/poly(*N*-isopropylacrylamide) interpenetrating polymeric networks. *Macromol.* **33** (2000) 102-107).

Mikrogelovi poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina) su sintetisani taložnom polimerizacijom NIPAM-a i MAc u vodenoj sredini i korišćeni su kao mikro-reaktori za sintezu nanočestica bakra *in situ*, koristeći natrijum borhidrid (NaBH₄) kao redukciono sredstvo (Farooqi et al. Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) microgel stabilized copper nanoparticles for catalytic reduction of nitrobenzene. *Mater. Sci.-Poland.* **33(3)** (2015) 627-634).

Predmet patenta CN103980525 je postupak dobijanja funkcionalnih poroznih mikrosfera p(NIPAM/MAc)/Fe₃O₄ sa magnetnim odzivom. Mikrosfere imaju dobru monodisperznost, a porozna struktura ih čini osjetljivijim na temperaturu. Velika sposobnost enkapsulacije i prisustvo magnetnih nanočestica čini mikrosfere lakim za postizanje brzog razdvajanja pod dejstvom magnetnog polja. Lee i saradnici su šuplje lateks čestice p(NIPAM/MAc)/Fe₃O₄ sintetisali takođe primenom *N,N*-metilenbisakrilamida kao umreživača, pri čemu se Fe²⁺ i Fe³⁺ joni vezuju za -COOH grupe segmenata metakrilne kiseline (Lee et al. Synthesis and characteristics of poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid)/Fe₃O₄ thermosensitive magnetic composite hollow latex particles. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **50** (2012) 2626-2634).

Patentom CN 105924588 štiti se novi hidrogel na bazi NIPAM-a, dipentaeritritola, 6-kaprolaktona i metakrilne kiseline, koji poseduje dobru biokompatibilnost i poboljšana mehanička svojstva.

Pronalazak CN 101704925 se odnosi na postupak dobijanja kompozitnih mikrogelova (NIPAM/MAc)/cirkonijum-dioksida, osjetljivih na promene temperature, pH vrednosti i posebno apsorpcije proteina, koji se mogu koristiti za razdvajanje proteina. Sinergistički efekat performansi komponente čini da multi-osetljivi mikrogel pokazuje više svojstava odgovora, kao što su mikrogel sa dvostrukom osjetljivošću na temperaturu i pH, temperaturu i magnetno polje i višestruka osjetljivost kompozitnih fluorescentnih supstanci.

Pronalazak US2011248417 se odnosi na postupak za pripremu kompozicije koja sadrži poroznu keramiku sa termo osjetljivim hidrogelom p(NIPAM/MAc).

Pregledom naučne literature pronađeni su radovi koji se mogu dovesti u vezu sa predmetnim pronalaskom. Kopolimerni hidrogelovi p(NIPAM/MAC) dostigli su maksimalni stepen bubrenja oko 28 na 20 °C i pH 9, dok su u dejonizovanoj vodi postigli najveći zapreminski stepen bubrenja oko 20 (Brazel and Peppas. Synthesis and Characterization of Thermo-and Chemomechanically Responsive Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) Hydrogels. *Macromol.* **28**(24) (1995) 8016-8020; Brazel and Peppas. Pulsatile local delivery of thrombolytic and antithrombotic agents using poly(*N*-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels *J. Control. Rel.* **39** (1996) 57-64).

Tim pronalazača je uspešno primenio metod radikalne polimerizacije za dobijanje hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-2-hidroksipropilmetakrilata) i patentom RS 53 220 B zaštitu i primenu sintetisanih hidrogelova kao nosača lekovitih supstanci sa ciljem kontrolisanog otpuštanja lekova u zavisnosti od temperature. U hidrogelove su inkorporisani lekovi sa antiinflamatornim delovanjem (paracetamol, ibuprofen, fenacetin, naproksen, piroksikam).

Predmet pronalaska RS-P-2016/1134 (A1) je postupak sinteze superapsorbirajućih hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) osetljivih na promene temperature i pH vrednosti, sa visokim kapacitetom apsorpcije fluida. Predmet zaštite pronalaska RS-P- 2016/1203 (A1) odnosi se na postupak primene hidrogelova osetljivih na promene temperature i pH vrednosti poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) za adsorpciju teških metala.

Nikolić i saradnici su sintetisali homopolimerne hidrogelove poli(*N*-izopropilakrilamida) i primenili ih za uklanjanje jona teških metala iz rastvora postupkom adsorpcije (RS-P-2017/0106).

U dostupnoj literaturi pronalazači nisu pronašli podatke o hidrogelovima p(NIPAM/MAC) koji postižu iste ili veće kapacitete bubrenja i apsorpcije fluida, što ukazuje na originalnost pronalaska. Predmetnim pronalaskom dobijaju se superapsorbirajući hidrogelovi p(NIPAM/MAC) osetljivi na promene temperature i pH vrednosti sa neočekivano visokim kapacitetom bubrenja i kraćim vremenom apsorpcije okolnog fluida, naročito nakon liofilizacije.

Umrežavanje kopolimera p(NIPAM/MAC), strukturne formule III, vršeno je primenom umreživača kao što su: *N,N*-metilen-bis(akrilamid), *N,N'*-etilen-bis(akrilamid), etilenglikoldimetakrilat, divinilbenzen u opsegu 0,1-10 mol%, prvenstveno u opsegu 1-3 mol%. u odnosu na količinu monomera. Iniciranje radikalne polimerizacije vršeno je jedinjenjima iz grupe peroksida, kao što su: benzoil-peroksid, *t*-butilperoktanoat, kumilhidroperoksid, dikumilperoksid, cikloheksil-hidroperoksid; ili persulfata, kao što su: kalijum persulfat, amonijum persulfat, natrijum metabisulfit, ili azo-jedinjenja, npr. 2,2'-azobis(2-metilpropionitril), ili redoks inicijatora za polimerizaciju u vodi (kalijum persulfat ili amonijum persulfat u kombinaciji sa kalijum metabisulfitom ili natrijum metabisulfitom), ili *N,N,N'*-tetrametilendiaminom. Nespareni elektron primarnog radikala reaguje sa elektronom suprotnog spina dvostruke veze monomera (NIPAM-a ili MAC) i dolazi do raskidanja slabije % veze (Stamenković et al. (2011). Hemija polimera. Leskovac: Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu). Rast polimernog lanca se odigrava raskidanjem nezasićenih veza vinil grupa monomera, dok se umrežavanje linearnih lanaca postiže preko dve vinil grupe umreživača. Rastvarač reakcione smeše je bio 1,4-dioksan. aceton, metanol, voda, ili etanol, prvenstveno metanol i aceton. Nakon rastvaranja reaktanta i homogenizacije, reakciona smeša je ubrizgana u staklene ampule, koje su nakon toga zatopljene. Iniciranje radikalne polimerizacije izvršeno je termički pri sledećem režimu zagrevanja: 20 do 40 min na temperaturi od 50 do 75 °C, 50 do 150 min na temperaturama od 75 do 85 °C i na 20 do 40 min na temperaturi od 85 do 95 °C. Dobijeni hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su nakon hlađenja izdvojeni iz staklenih cevi, isečeni na tanke diskove prosečne debljine 2 mm. Verovatni raspored strukturnih monomera je proizvoljan (statistički). U sintetisanim hidrogelovima (strukturna formula III) mogu se uspostaviti intramolekulske interakcije po tipu vodonične veze između amidnih funkcionalnih grupa monomera NIPAM-a i karboksilnih funkcionalnih grupa komonomera MAC. Vodonične veze mogu biti posledica interakcije OH grupe i protona karboksilnih grupa metakrilne kiseline ili NH i C=O grupa NIPAM-a, a imaju važnu ulogu pri bubrenju i kontrahovanju kopolimera u vodenom medijumu (Sun et al. Spectral interpretation of thermally irreversible recovery of poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) hydrogel. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13(11) (2011) 5061-5067). Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su dovedeni u stanje kserogelova i čuvani u eksikatoru radi dalje karakterizacije i ispitivanja potencijalnih primena.

Analiza rezidualnih monomera i umreživača

Proces radikalne polimerizacije retko se odigrava do kraja i zato sintetisani polimeri sadrže određenu količinu rezidualnih (neizreagovanih) reaktanata. U polimernoj matrici mogu biti prisutni i sporedni proizvodi procesa polimerizacije. Dugotrajno izlaganje ljudskog organizma monomerima zaostalim u toku proizvodnje ili primene polimernih proizvoda može imati za posledicu kancerogene, teratogene, alergijske i iritacione efekte na organizam (Araujo et al. Techniques for reducing residual monomer content in polymers: A review. *Polym. Eng. Sci.* 42(7) (2002) 1442-1468; Chien et al. Direct cell encapsulation in biodegradable and functionalizable carboxybetaine hydrogels. *Biomaterials.* 33(23) (2012) 5706-5712; Pemberton i Lohmann. Risk Assessment of residual monomer migrating from acrylic polymers and causing Allergic Contact Dermatitis during normal handling and use. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 69(3) (2014) 467—475). Zato je potrebno dizajnirati uslove polimerizacije da se dobiju manje količine rezidualnih reaktanata u proizvodu, ili naknadnim postupcima smanjiti njihovu količinu.

U cilju uklanjanja neproreagovanih reaktanata nakon sinteze, hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su preliveni rastvorom 99% metanola koji je nakon 48 h dekantovan i analiziran primenom metode tačne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC). Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su dodatno ispirani sukcesivnom zamenom rastvora metanol/destilovana voda u zapreminskom odnosu 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 i 0/100% po 24 h i osušeni na 40 °C do konstantne mase. Snimanja su vršena na HPLC uređaju Agilent 1100 serije (Waldborn, Germany) sa kolonom Zorbax Eclipse XDB-C18 (5mm, 4,6x250 mm) na 25 °C. Kao mobilna faza je korišćen metanol, brzine protoka 1 cm³/min, a injektirano je po 10 µl uzoraka. Uzorci za HPLC analizu su filtrirani na celuloznom membranskom filtru, prečnika pora 0,45 µm. Monomer MAC pokazuje maksimum apsorpcije zračenja iz UV oblasti na 205 nm, EGDM na 210 nm i NIPAM-a na 235 nm, a za ispitivanja je uzeta talasna dužina detekcije 210 nm. HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata kopolimera p(NIPAM/MAC) prikazan je na slici I sa odgovarajućim UV spektrima polaznih jedinjenja. Retencionna vremena za reaktante pri izabranim uslovima hromatografisanja su iznosila: $R_t = 3,274$ min za NIPAM, $R_t = 2,733$ min za MAC i $R_t = 3,411$ min za EGDM.

Pripremljene su serije standardnih rastvora NIPAM-a, MAC i EGDM-a poznatih koncentracija radi konstruisanja kalibracionih krivih. Za pravolinijski deo zavisnosti dobijene su jednačine prave 1, 2 i 3 za određivanje sadržaja NIPAM-a, MAC i EGDM-a, redom.

$$A = 25985,5 117c + 266,8289 \quad (1)$$

$$A = 50116,5937 c - 176,4241 \quad (2)$$

$$A = 48598,8664c + 369,2626 \quad (3)$$

gde je A površina pika (mAU-s), a c je koncentracija reaktanata (mg/cm³). Konstruisane kalibracione krive monomera NIPAM-a i MAc i umreživača EGDM-a prikazane su na slici 2.

Neproreagovale količine monomera NIPAM-a, komonomera MAc i umreživača EGDM-a u toku sinteze, izračunate primenom jednačina 1, 2, i 3, u odnosu na ukupnu masu sintetisanih kserogelova, kao i procentualni udeo u odnosu na njihovu početnu masu u reakcionoj smeši navedene su u tabeli 1.

Tabela 1: Količine rezidualnih reaktanata u sintetisanim p(NIPAM/MAc) kopolimerima

Mase neizreagovanih reaktanata u odnosu na ukupnu masu kserogela (mg/g)						
EGDM (mol%)	MAc (mol%)					
	5			10		
	NIPAM	MAc	EGDM	NIPAM	MAc	EGDM
1,5	3,737	0,167	0,133	5,085	0,228	0,172
2	3,082	0,201	0,156	1,862	0,341	0,085
3	3,093	0,186	0,219	2,261	0,209	0,138

Udeo neizreagovanih reaktanata u odnosu na početnu količinu u reakcionoj smeši (mas%)						
EGDM (mol%)	MAc (mol%)					
	5			10		
	NIPAM	MAc	EGDM	NIPAM	MAc	EGDM
1,5	0,399	0,468	0,469	0,563	0,332	0,604
2	0,332	0,570	0,417	0,208	0,501	0,226
3	0,340	0,537	0,398	0,258	0,313	0,249

Količine rezidualnih monomera u odnosu na dobijenu količinu kserogelova p(NIPAM/MAc) kreću se u sledećim granicama: 1,862 - 5,085 mg/g za NIPAM i 0,167 - 0,341 mg/g za MAc, dok je količina neproreagovanih umreživača EGDM-a u opsegu 0,085 - 0,219 mg/g (tabela 1). Procentualni udeo neproreagovanih reaktanata u odnosu na količinu prisutnu u reakcionoj smeši pre polimerizacije (0,208-0,563% za NIPAM, 0,313-0,570% za MAc i 0,226- 0,604% za EGDM) nalazi se u prihvatljivim granicama i ukazuje na zadovoljavajuću konverziju reaktanata u kopolimer p(NIPAM/MAc).

Karakterizacija hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina)

FTIR spektroskopija

Hidrogelovi su usitnjeni u stanje praha na amalgamatoru (WIG-L-BVG. 31210-3A. USA). Tanke transparentne tablete su pripremljene od po 150 mg KBr (99%, Merck. Darmstadt. Germany) i po 1 mg hidrogelova p(NIPAM/MAC) ili monomera NIPAM-a. vakuumiranjem i presovanjem pod pritiskom od oko 200 MPa. Tečni uzorci komonomera MAC i umreživača EGDM-a su snimani u obliku tankog filma između dve pločice od zink selenida (ZnSe). FTIR spektri su snimani u oblasti talasnih brojeva od 4000 do 400 cm^{-1} na FTIR spektrofotometru Bomem Hartmann & Braun MB-series i obrađeni primenom softvera Win-Bomem Easy.

Na slici 3 prikazani su FTIR spektri monomera NIPAM-a, MAC, umreživača EGDM-a i sintetisanih kopolimera p(NIPAM/MAC), uzorci 95/5/1,5 i 90/10/1,5. U oznaci uzorka prvi broj predstavlja mol% NIPAM-a, drugi broj mol% MAC u odnosu na NIPAM, a treći mol% umreživača EGDM-a u odnosu na ukupnu količinu komonomera.

U FTIR spektru monomera NIPAM-a (slika 3a) postoji apsorpciona traka jakog intenziteta sa maksimumom na 3297 cm^{-1} koja je rezultat N-H valencionih vibracija sekundarne amino grupe, $\nu(\text{N-H})$ (Kurečić et al. UV polymerization of *poly(N-isopropylacrylamide)* hydrogel. *Mater. Technol.* **46**(1) (2012) 87-91). U oblasti talasnih brojeva iznad 3000 cm^{-1} karakteristična je i apsorpciona traka na 3072 cm^{-1} koja se pripisuje asimetričnim vibracijama C-H veze iz vinilne grupe ($\text{CH}=\text{CH}_2$), $\nu_{\text{as}}(\approx\text{C-H})$. Asimetrične i simetrične valencione vibracije C-H veze iz metil grupa daju trake sa maksimumima na 2971 i 2876 cm^{-1} , redom. Posledica vibriranja amidne grupe u strukturi NIPAM-a su apsorpcione trake jakog intenziteta na 1658 cm^{-1} (amidna traka I) i 1550 cm^{-1} (amidna traka II), što je u skladu sa literaturnim podacima drugih autora (Saikia et al. Swelling dynamics of poly(NIPAM-*co*-AMPS) hydrogels synthesized using PEG as macroinitiator: effect of AMPS content. *J. Polym. Res.* **20** (2013) 1-9). Apsorpciona traka jakog intenziteta na 1619 cm^{-1} u FTIR spektru monomera (slika 3a) se pripisuje valencionim vibracijama dvostruke veze, $\nu(\text{C}=\text{C})$, (Jadhav et al. Synthesis of poly(*N*-isopropylacrylamide) by distillation precipitation polymerization and quantitative grafting on mesoporous silica. *J. Appl. Polym. Sci.* **133**(44) (2016) 44181-44189). Deformacione vibracije C-H veza vinilnih grupa, $\delta(\approx\text{C-H})$, daju trake na 1411 i 1246 cm^{-1} .

U FTIR spektru NIPAM-a uočava se samo jedna apsorpciona traka od deformacionih vibracija C-H veze iz izopropil grupe, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, i to na 1368 cm^{-1} . Potvrdu postojanja izopropil grupe u strukturi monomera pružaju i apsorpcione trake na 1167 i 1130 cm^{-1} , kao i traka od asimetričnih deformacionih C-H vibracija u ravni CH_3 -C grupe na 1458 cm^{-1} .

Dobijeni FTIR spektar MAc (slika 3b) je u skladu sa literaturno dostupnim spektrima (Arya et al. Methacrylic acid-co-butylmethacrylate copolymers: design, characterization and evaluation as encapsulating material for colon targeted formulations. *Des. Monomers Polym.* 19(1) (2016). 34-46; Gupta and Shivakumar. Investigation of swelling behavior and mechanical properties of a pH-sensitive superporous hydrogel composite. *Iran. J. Pharm. Res.* 11(2) (2012) 481—493). U oblasti talasnih brojeva $2700\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ spektar pokazuje široku traku od valencionih OH vibracija, $\nu(\text{OH})$. Rezultat valencionih i deformacionih vibracija C-H veze iz vinilne grupe jesu apsorpcione trake sa maksimumom na 3108 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}(\text{=C-H})$), 1430 cm^{-1} ($\delta(\text{=C-H})$ iz grupe CH_2) i 1204 cm^{-1} ($\delta(\text{=C-H})$ iz CH grupe). Asimetrične valencione vibracije iz CH_3 i CH_2 grupe, $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$, daju apsorpcione trake na 2966 i 2929 cm^{-1} , redom. U FTIR spektru komonomera (slika 3b) postoji i apsorpciona traka jakog intenziteta sa maksimumom na 1698 cm^{-1} koja se pripisuje valencionim vibracijama C=O grupe, $\nu(\text{C=O})$. Rezultat valencionih C=C vibracija, $\nu(\text{C=C})$, je apsorpciona traka srednjeg intenziteta koja u FTIR spektru MAc (slika 3b) postoji sa maksimumom na 1634 cm^{-1} (Arya et al. Methacrylic acid-co-butylmethacrylate copolymers: design, characterization and evaluation as encapsulating material for colon targeted formulations. *Des. Monomers Polym.* 19(1) (2016). 34—46). Apsorpciona traka sa maksimumom na 1300 cm^{-1} nastaje usled kuplovanja valencionih vibracija C-O veze. $\nu(\text{C-O})$, i deformacionih vibracija hidroksilne grupe, $\delta(\text{OH})$. Deformacione vibracije C-H veze. $\delta(\text{C-H})$, iz CH_3 grupe apsorbuju zračenje na 1454 cm^{-1} . Vibriranje veza vinilne grupe daje i najintenzivniju apsorpcionu traku u oblasti talasnih brojeva ispod 1000 cm^{-1} sa maksimumom na 947 cm^{-1} .

U FTIR spektru EGDM-a (slika 3c) u oblasti iznad 3000 cm^{-1} karakteristična je apsorpciona traka slabog intenziteta sa maksimumom na 3105 cm^{-1} koja odgovara valencionim vibracijama C-H veze vinilne grupe, $\nu(\text{=C-H})$. Apsorpciona traka od valencionih vibracija C-O veze EGDM-a se javlja u oblasti talasnih brojeva od oko 1150 do 1180 cm^{-1} , što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u radu Ilić-Stojanović i saradnika (Ilić-Stojanović et al. Synthesis and characterization of thermosensitive hydrogels and the investigation of modified release of ibuprofen. *Hem. Ind.* 67(6) (2013) 901-912).

Karakteristične su i apsorpcione trake koje su rezultat valencionih vibracija keto grupe, $\nu(\text{C}=\text{O})$, na 1723 cm^{-1} i valencionih vibracija dvostruke veze, $\nu(\text{C}=\text{C})$, na 1636 cm^{-1} .

U FTIR spektrima kopolimera p(NIPAM/MAC), (slika 3d i e) prisustvo apsorpcionih traka jakog intenziteta sa maksimumima na oko 1547 cm^{-1} 1650 cm^{-1} i u oblasti talasnih brojeva 3290- 3320 cm^{-1} ukazuju na prisustvo C=O i N-H grupa NIPAM-a unutar strukture sintetisanih kopolimera. Apсорpciona traka od valencionih vibracija N-H veza, $\nu(\text{N-H})$, je pomerena za 15 jedinica ka višim talasnim brojevima u uzorku kopolimera 95/5/1,5 (slika 3d), odnosno za 3 jedinice ka nižim talasnim brojevima u uzorku 90/10/1,5 (slika 3e) u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru NIPAM-a (slika 3a). Na FTIR spektrima kopolimera javlja se i apсорpciona traka od valencionih vibracija OH grupe iz MAC, $\nu(\text{OH})$, sa znatnim pomeranjem ka većim talasnim brojevima ($3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$). Apсорpciona traka koja se pripisuje valencionim vibracijama C=O veze MAC ili EGDM-a sa maksimumima na 1722 i 1713 cm^{-1} u FTIR spektrima kopolimera je takođe pomerena u odnosu na položaj traka u spektrima monomera (slika 3a) ili umreživača (slika 3c). Na osnovu pomeranja navedenih traka može se zaključiti da je moguća intramolekulska vodonična interakcija u kopolimeru između N-H grupe iz NIPAM-a i OH i C=O grupa iz MAC. U prilog konstataciji da N-H grupa iz NIPAM-a može učestvovati u vodoničnim interakcijama kao proton donorska grupa, ide i pomeranje apсорpcione amidne trake II. U kopolimeru i C=O grupa iz NIPAM-a može biti akceptor vodonika prilikom formiranja intramolekulskih interakcije po tipu vodonične veze. Rezultati FTIR analize pokazuju da inkorporirani umreživač može graditi vodonične veze preko C=O i C-O-C grupe sa proton donorskim N-H grupama NIPAM-a. Vezivanje monomera u reakciji polimerizacije je izvršeno raskidanjem dvostrukih C=C veza. Dokaz za to je odsustvo valencionih vibracija C=C veza i deformacionih vibracija vinilne grupe oba monomera (Farooqi et al. Poly(*N*- isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) microgel stabilized copper nanoparticles for catalytic reduction of nitrobenzene. *Mater Sci Poland* **33**(3) (2015) 627-634.).

Difrakcija X-zraka (XRD)

Rendgenska difrakcija je izvršena je metodom difrakcije rendgenskih, X-zraka. Uzorci su samleveni u obliku praha i ispitivani na automatskom difraktometru za prah Phillips PW1030 sa monohromatskom CuK_α radijacijom talasne dužine $\lambda=0,154178\text{ nm}$.

Radni napon uređaja je iznosio 40 kV, a jačina struje 20 mA. Snimanje uzoraka je vršeno u opsegu od 3 - 48° sa korakom 0,05° i vremenom snimanja, $\tau = 5$ s.

XRD difraktogrami praha kopolimera p(NIPAM/MAC) prikazuju dva široka difrakciona pika i to sekundarni, uži, na vrednostima ugla difrakcije 2θ od 8,43° i 8,64° i fundamentalni, širi, na vrednostima ugla difrakcije 2θ od 19,78 i 19,80°, za uzorke sa po 5 i 10 mol% komonomera MAC. redom (slika 4). Široki difrakcioni pikovi nemaju jasno definisane refleksije i ukazuju na nizak stepen kristaliničnosti (Ilić-Stojanović et al. The structure characterization of thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-2-hydroxypropyl methacrylate) hydrogel. *Polym. Int.* **63**(6) (2014) 973-981) tj. kopolimer p(NIPAM/MAC) poseduje semikristaličnu strukturu.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Uzorci hidrogelova p(NIPAM/MAC) u nabubrelom stanju su najpre liofilizovani na uređaju LH Leybold, Lyovac GT2 (Frenkendorf, Switzerland) i pre sečenja su potopljeni u tečni azot. da bi se sprečilo lomljenje i deformacija polimerne matrice, a nakon toga je pod vakumom raspršen tanak sloj legure zlata i paladijuma (15/85) u rasprašivaču JEOL Fine Coat JFC-1100E Ion sputter (JEOL. Co. Japan). Metalizirani uzorci su snimani na uređaju JEOL Scanning Electron Microscope JSM- 5300 (JEOL. Co. Japan).

Morfologija nabubrelih hidrogelova p(NIPAM/MAC), uzorak 95/5/1,5 i 90/10/1,5. prikazana je na slici 5. U trodimenzionalnoj strukturi hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 5 mol% MAC više su zastupljene pore u opsegu 5-30 μm . U strukturi sunderastog izgleda javlja se i nekoliko pora dimenzija 50-150 μm , tako da je u slučaju uzorka hidrogela p(NIPAM/MAC) 95/5/1,5 najizraženija neuniformnost procesa umrežavanja (slika 5a). U radu Qi i saradnika porozna struktura hidrogela p(NIPAM/MAC) u nabubrelom stanju je regularna sa ujednačenijim rasporedom pora veličine $28,3 \pm 7,5$ μm (Qi et al. Development of novel hydrogels based on Salecan and poly(*N*- isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) for controlled doxorubicin release. *RSC Adv.* **6**(74) (2016) 69869-69881). Morfologija površinskih i unutrašnjih struktura nabubrelih hidrogelova je u funkciji sastava i svojstava bubrenja kopolimera. Kopolimer p(NIPAM/MAC) sa 10 mol% MAC poseduje "iskidanu strukturu" poroznog karaktera sa srednjom veličinom pora oko 60 μm (slika 5c i d). što je posledica visokog ravnotežnog stepena bubrenja ili procesa liofilizacije (Panić. Sinteza i svojstva hidrogelova na bazi metakrilne kiseline modifikovanih zeolitima. (2012). Doktorska disertacija. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.).

Bubrenje hidrogelova

Hidrogelovi u stanju kserogelova su potopljeni u rastvore različitih pH vrednosti (2,2, 4,5, 6,8 i 9,1) i temperature (u opsegu od 20-80 °C) i proces bubrenja je praćen gravimetrijski. Uzorci su vađeni iz rastvora, odstranjivan je višak rastvora sa njihove površine, a nakon toga je merena masa nabubrelih hidrogelova u određenim vremenskim intervalima do postizanja ravnotežnog stanja, tj. konstantne mase. Stepen bubrenja, α , je računat prema jednačini (1):

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} \quad (1)$$

gde je m_0 - masa suvog uzorka, a m - masa nabubrelog hidrogela u trenutku vremena t .

Uticaj temperature na karakteristike bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) je ispitan u vodenom kupatilu (Sutjeska, Beograd) u temperaturnom opsegu od 20 do 80 °C. Rastvori određenih pH vrednosti su pripremljeni dodatkom HCl (Zorka, Šabac, Srbija) i NaOH (Centrohem, Beograd, Srbija) uz merenje kiselosti, odnosno baznosti, digitalnim pH-metrom (HI9318-HI9219, HANNA, Portugal).

Stepen bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) je obrnuto proporcionalan koncentraciji umreživača EGDM-a na svim ispitivanim pH vrednostima i temperaturama, tj. sa povećanjem stepena umreženja opada stepen bubrenja (slika 6).

Hidrogelove sa većim sadržajem umreživača karakteriše gušća polimerna mreža sa manjim kapacitetom apsorpcije vodenih rastvora različitih pH vrednosti i obratno manji sadržaj EGDM-a uzrokuje veći kapacitet apsorpcije. Izuzetak je serija hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 5 mol% MAC, gde u vodenom rastvoru pH vrednosti 6,8 i 9,1 hidrogel sa 2 mol% EGDM-a ima veći ravnotežni kapacitet bubrenja od hidrogela sa 1,5 mol% umreživača (slika 6e i g).

Ispitivana je zavisnost ravnotežnih stepena bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) od sadržaja komonomera MAC i pH vrednosti medijuma za bubrenje na 25 °C (slika 7). Zapaženo je da pH vrednost i sadržaj hidrofilnog komonomera MAC imaju značajan uticaj na proces bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC). U kiseloj sredini (pH 2,2 i 4,5) postignuti su manji ravnotežni stepeni bubrenja, pri čemu je apsorpcija vodenog rastvora u funkciji sadržaja komonomera. Ibarra-Montaño i saradnici navode da je pKa vrednost kisele grupe MAA 4,462, a Pomogailo i saradnici 4.660 (Ibarra-Montaño et al. *J. Appl. Sol. Chem. Model.* **4**(1) (2015) 7-18; Pomogailo et al. In: Pomogailo AD, Kestelman VN, Dzhardimalieva GI (eds.). *Macromolecular Metal Carboxylates and Their Nanocomposites.* (2010). Springer Series in Materials Science, vol 138. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 7-25). Visoka apsorpciona sposobnost hidrogela p(NIPAM/MAC) sa 10 mol% MAC u

poređenju sa hidrogelom sa 5 mol% MAc u medijumu pH vrednosti 4,5 (siika 7) se objašnjava većom koncentracijom jonizovanih karboksilnih grupa na polimernim lancima koja dovodi do većeg rastojanja između čvorova mreže i povećanja zapremine. Javlja se rast ravnotežnog stepena bubrenja kod obe serije hidrogelova p(NIPAM/MAc) sa povećanjem pH vrednosti vodenog medijuma. Maksimalni kapacitet apsorpcije od sintetisanih hidrogelova na bazi NIPAM-a i MAc postigao je uzorak sa 10 mol% MAc i 1,5 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 9,1 (1 g gela apsorbuje 212,025 g vode). Hidrogelovi sa MAc mogu naći primenu kao superapsorpcioni materijali. Hidrogel p(NIPAM/MAc) sintetisan u radu Brazel i Peppas-a slobodnom radikalnom polimerizacijom u rastvoru sa molskim udelom NIPAM-a 88% i EGDM-om kao umreživačem je ispitan na promene temperature i pH vrednosti. Hidrogel je u dejonizovanoj vodi postigao najveći zapreminski stepen bubrenja oko 20 (Brazel and Peppas. Synthesis and Characterization of Thermo-and Chemomechanically Responsive Poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) Hydrogels. *Macromol.* **28**(24) (1995) 8016-8020; Brazel and Peppas. Pulsatile local delivery of thrombolytic and antithrombotic agents using poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels. *J. Control. Rel.* **39** (1996) 57-64), što je 10 puta niži kapacitet bubrenja u odnosu na sintetisane gelove u predmetnom pronalasku.

Ravnotežni stepeni bubrenja svih uzoraka kopolimera p(NIPAM/MAc) u rastvorima ispitivanih pH vrednosti (2,2; 4,5; 6,8 i 9,1) na temperaturi 37 °C u zavisnosti od sadržaja komonomera prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2: Ravnotežni stepeni bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAc) sa 5 i 10 mol% MAc u rastvorima različitih pH vrednosti na 37 °C

Uzorak	α_c			
	pH=2,2	pH=4,5	pH=6,8	pH=9,1
95/5/1,5	2,712	3,032	13,013	43,833
95/5/2	2,312	2,834	20,585	117,673
95/5/3	2,156	2,601	9,479	23,333
90/10/1,5	1,257	2,022	6,532	12,116
90/10/2	1,123	1,493	4,376	10,864
90/10/3	0,989	1,199	3,338	9,689

Iz tabele 2 se može zaključiti da su hidrogelovi p(NIPAM/MAc) pH-osetljivi na povišenoj temperaturi od 37 °C i da imaju manje ravnotežne stepene bubrenja u odnosu na dostignute vrednosti bubrenja na 25 °C. Na 37 °C povećanje sadržaja MAc ima antagonistički efekat na

apsorpciju vodenog medijuma. Antić i saradnici objašnjavaju da smanjenje stepena bubrenja hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-itakonska kiselina), p(NIPAM/IA), u dejonizovanoj vodi sa povećanjem udela itakonske kiseline u kopolimeru je rezultat formiranja intermolekulskih vodoničnih interakcija. Ove interakcije dovode do povećanja ukupne gustine umreženja hidrogela (Antić et al. Preparation and characterization of novel P (HEA/IA) hydrogels for Cd²⁺ ion removal from aqueous solution. *Appl. Surf Sci.* **338** (2015) 178-189.). Dodatna metil grupa u strukturi anjonskog komonomera doprinosi većoj hidrofobnosti sintetisanih kopolimera p(NIPAM/MAC) i smanjenju kapaciteta bubrenja u odnosu na kopolimere p(NIPAM/AAC), što je u skladu sa ispitivanjima drugih autora (Gao et al. pH- and thermo-responsive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*- acrylic acid derivative) copolymers and hydrogels with LCST dependent on pH and alkyl side groups. *J. Mater. Chem. B* **41** (2013) 5578-5587). Neki uzorci hidrogelova p(NIPAM/MAC) dostižu ravnotežno bubrenja tek za 2 dana, prvenstveno iz serije sa 10 mol% MAC (slika 6b. d, f i h).

Uticaj temperature na bubrenje p(NIPAM/MAC) hidrogelova

Osetljivost hidrogelova p(NIPAM/MAC) na promene temperature od 20 do 80 °C u rastvoru pH vrednosti 6 prikazana je na slici 8. Kopolimerni hidrogelovi p(NIPAM/MAC) reaguju na promenu temperature u vodenom medijumu obrazovanjem ili disocijacijom vodoničnih veza sa molekulima vode. U građenju vodoničnih veza učestvuju funkcionalne grupe: karbonilna, karboksilna i amino (Chen et al. Thermo-responsive properties of poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*- acrylic acid) hydrogel and its effect on copper ion removal and fouling of polymer-enhanced ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* **469** (2014) 73-79; Sun et al. Spectral interpretation of thermally irreversible recovery of poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) hydrogel. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**(11) (2011) 5061-5067). Na slici 8 se može videti da temperatura ima antagonistički efekat na stepen bubrenja svih hidrogelova u ispitivanom opsegu. Povišenjem temperature iznad 30 °C dolazi do značajnog smanjenja stepena bubrenja, tako da se hidrogelovi mogu svrstati u grupu negativno temperaturno-osetljivih. Na temperaturama ispod temperatura zapreminskog faznog prelaza (VPTT) u hidrogelovima dolazi do hidratacije bočnih grupa tj. ostvarivanja intermolekulskih vodoničnih interakcija sa molekulima vode. Na temperaturama iznad faznog prelaza se raskidaju vodonične veze sa molekulima vode i postaju dominantnije hidrofobne interakcije između bočnih grupa polimerne mreže, stoga dolazi do kontrahovanja kopolimera i izbacivanja vode iz njegove strukture (Zhang et al. Thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) hydrogels with

expanded network structures and improved oscillating swelling-deswelling properties. *Langmuir* **18**(6) (2002) 2013-2018).

Postupak liofilizacije p(NIPAM/MAC) hidrogelova

Prema pronalasku, hidrogelovi p(NIPAM/MAC) nabubrela do ravnoteže podvrgnuti su procesu liofilizacije, tj. sušenju u vakuumu pri vrlo niskim temperaturama, kojim se obezbeđuje očuvanje strukture polimernih lanaca i nizak sadržaj vlage. Liofilizacija je izvršena na uređaju LH Leybold, Lyovac GT2 (Frenkendorf, Switzerland). Hidrogelovi su najpre brzo zamrznuti na temperaturi od -30 do -70 °C za vreme od 5 do 50 min. U fazi primarnog sušenja na temperaturi od -30 do 0 °C i pritisku od 50 μ bar tokom 3 do 40 h, prvenstveno 24 do 36 h. vrši se sublimacija, tj. zamrznuta tečnost prelazi direktno u gasovito stanje bez prolaza kroz tečnu fazu i na taj način se količina rastvora smanjuje. Nabubrela hidrogelovi p(NIPAM/MAC) postepeno dehidriraju sublimacijom leda pod vakuumom bez bitne promene oblika, pri čemu sublimira približno 90% vode. U fazi izotermne desorpcije, ili sekundarnog sušenja, sa normalnim vakuum sušenjem, hidrogelovi još uvek sadrže kapilarnu, vezanu vodu koja nije zamrznuta. pri čemu se izdvaja para iz komore za sušenje pretvaranjem u led. Hidrogelovi se zagrevaju od -20 do 0 °C tokom 2 do 24 h i pritisku od 60 μ bar. U ovoj fazi sporog procesa sušenja, uklanja se još oko 5% vezane vode, do vrednosti koja ne podržava hemijske reakcije. Liofilizovani hidrogelovi se pakuju pod vakuumom ili suvim inertnim gasom i čuvaju se u frižideru na 4 do 8°C.

Bubrenje p(NIPAM/MAC) hidrogelova nakon liofilizacije

Uzorci serije hidrogelova p(NIPAM/MAC) pre i posle liofilizacije su uronjeni u rastvore pH vrednosti 6 na temperaturi 25 °C pri čemu je praćen proces bubrenja u toku 72 h (slika 9). Liofilizovani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) sa 5 i 10 mol% MAC u rastvoru pH 6 i na temperaturi 25 °C (slika 9b i d) brže apsorbiraju medijum za bubrenje i pokazuju manje vrednosti ravnotežnih stepena bubrenja u odnosu na hidrogelove koji nisu podvrgnuti ovoj tehnici sušenja pri niskim temperaturama (slika 9a i c). Posledica procesa bubrenja i liofilizacije hidrogelova p(NIPAM/MAC) je smanjena fleksibilnost polimernih lanaca koji doprinose manjoj apsorpciji rastvora pri ponovnom bubrenju.

Za analizu prirode procesa difuzije rastvarača unutar hidrogelova koristi se jednačina 2 koja daje zavisnost promene mase hidrogelova sa vremenom u toku procesa bubrenja. Jednačina 2 važi za uslov $M_t/M_e \leq 0,6$ (Bajpai et al. Swelling-deswelling behavior of poly(acrylamide-co-maleic acid)

hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* 80(14) (2001) 2782-2789; Ritger PL and Peppas NA. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Control. Release* 5(1) (1987) 37-42).

$$F' = \frac{M_t}{M_c} = kt^n \quad (2)$$

gde su F' -frakciona sorpcija, M_t -masa apsorbovanog rastvarača u trenutku t , M_c -masa apsorbovanog rastvarača u stanju ravnoteže, k -konstanta karakteristična za određenu vrstu polimerne mreže ($\text{min}^{1/n}$ i n -difuzioni eksponent).

Logaritmovanjem jednačine 2 dobija se jednačina 3.

$$\ln F' = \ln (M_t / M_c) = \ln k + n \ln t \quad (3)$$

Iz nagiba pravolinijske zavisnosti između $\ln F'$ i $\ln t$ izračunava se vrednosti difuzionog eksponenta n . a iz odsečka konstanta k . Vrednost difuzionog eksponenta n određuje mehanizam difuzije vode. odnosno rastvarača ($n < 0,5$ transport rastvarača odgovara "manje Fick-ovom" mehanizmu difuzije; $n = 0,5$ transport rastvarača odgovara Fick-ovom mehanizmu difuzije (Slučaj I); $0,5 < n < 1$ transport rastvarača odgovara anomalnom mehanizmu difuzije (ne-Fick-ova difuzija); $n = 1$ transport rastvarača odgovara mehanizmu difuzije Tipa II (Slučaj II) i $n > 1$ transport rastvarača odgovara mehanizmu difuzije Tipa III (Super Slučaj II)).

Koeficijent difuzije molekula rastvarača u hidrogel (D) se određuje metodom koji uzima u obzir samo početnu fazu bubrenja (60% bubrenja) tokom koje debljina polimera u osnovi ostaje konstantna, jednačina 4 (Wang et al. Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2 hydroxyethyl methacrylate/styrene copolymer hydrogels *J. Appl. Polym. Sci.* 109(5) (2008) 3018 3023).

$$\frac{M_t}{M_c} = 4 \left(\frac{Dt}{\pi l^2} \right)^{1/2} \quad (4)$$

D predstavlja koeficijent difuzije (cm^2/min), a l debljinu suvog hidrogela (cm).

Logaritmovanjem jednačine 4 dobija se pravolinijska zavisnost između $\ln(M_t/M_c)$ i $\ln t$ (jednačina 5) iz čijeg nagiba se izračunava D .

$$\ln \left(\frac{M_t}{M_c} \right) = \left(\frac{4D^{1/2}}{\pi^{1/2} l} \right) + \frac{1}{2} \ln t \quad (5)$$

U tabeli 3 prikazane su vrednosti kinetičkih parametara (n , k i D) procesa bubrenja serije hidrogelova p(NIPAM/MAc). Povećanjem sadržaja komonomera MAc sa 5 na 10 mol% menja se mehanizam difuzije vodenog rastvora unutar hidrogelova p(NIPAM/MAc) od Super Case II tipa do

anomalnog tipa difuzije (tabela 3). Ovo znači da promena sastava hidrogeiova p(NIPAM/MAC) određuje koji proces kontroliše bubrenje polimera, odnosno penetraciju rastvora. Kod svih liofilizovanih uzoraka hidrogelova p(NIPAM/MAC) je stepen penetracije vode u polimerni matriks znatno manji u odnosu na stepen relaksacije polimernih lanaca ("manje Fick-ova" difuzija) (Bajpai et al. Swelling-deswelling behavior of poly(acrylamide-co-maleic acid) hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* **80**(14) (2001) 2782-2789; Wang et al. Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2- hydroxyethyl methacrylate/styrene copolymer hydrogels *J. Appl. Polym. Sci.* **109**(5) (2008) 3018- 3023).

Veće vrednosti koeficijenta difuzije D kod liofilizovanih hidrogelova p(NIPAM/MAC) se objašnjavaju činjenicom da ovi uzorci imaju veća rastojanja između čvorova polimerne mreže, što omogućava bržu difuziju rastvora.

Tabela 3: Kinetički parametri bubrenja p(NIPAM/MAC) hidrogelova u rastvoru pH 6 na 25 °C

Uzorak	Pre liofilizacije				Posle liofilizacije			
	n	$k \times 10^4$ ($\text{min}^{1/n}$)	R^2	$D \times 10^9$ (cm^2/min)	n	k ($\text{min}^{1/n}$)	R^2	$D \times 10^5$ (cm^2/min)
95/5/1,5	1,278	2,782	0,995	0,152	0,273	0,178	0,975	6,228
95/5/2	1,409	1,389	0,994	0,038	0,345	0,136	0,988	3,632
95/5/3	1,025	11,183	0,969	2,454	0,303	0,134	0,959	3,521
90/10/1,5	0,733	25,072	0,985	12,336	0,411	0,106	0,986	2,198
90/10/2	0,906	19,228	0,984	7,256	0,444	0,094	0,980	1,753
90/10/3	0,741	24,777	0,999	12,048	0,198	0,202	0,977	8,045

Ispitivanje reverzibilnosti bubrenja hidrogelova

Za ispitivanje reverzibilnosti odabrani su uzorci kopolimernih hidrogelova p(NIPAM/MAC) podvrgnuti kroz 3 ciklusa naizmeničnog bubrenja i kontrahovanja u rastvoru pH vrednosti 6. variranjem temperature od 25 do 70 °C. Na ovaj način je određena i mogućnost ponovne primene sintetisanih hidrogelova. Na slici 10 prikazani su rezultati ispitivanja koji predstavljaju ravnotežne stepene bubrenja uzoraka hidrogelova p(NIPAM/MAC) u rastvoru pH 6 na 25 °C u svakom ciklusu naizmeničnog bubrenje i kontrahovanja. Hidrogelovi u nabubreloom stanju na 25 °C imaju meku, prozirnu strukturu, a povišenjem temperature iznad faznog prelaza dobijaju belu čvrstu konzistenciju. U II ciklusu bubrenja javlja se smanjenje stepena bubrenja hidrogela sa 5 mol% MAC za 3,685%, dok za hidrogel sa 10 mol% MAC smanjenje stepena bubrenja iznosi 2,238%. Ovakav trend smanjenja kapaciteta apsorpcije rastvora nastavlja se i u III ciklusu, s tim da su stepeni

bubrenja hidrogelova na 25 °C manji u odnosu na I ciklus za 8,360% i 5,148%. Evidentno je da hidrogelovi p(NIPAM/MAC) pri ponovnom ciklusu bubrenja postižu i dalje izuzetno visoke apsorpcione kapacitete rastvora.

Novost predmetnog pronalaska u odnosu na dostupno stanje tehnike je novi postupak sinteze hidrogelova na bazi NIPAM-a i MAC kojim se dobija proizvod sa visokim kapacitetom bubrenja. Maksimalni kapacitet apsorpcije vode od sintetisanih postiže uzorak sa 10 mol% MAC i 1.5 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 9,1 (1 g gela apsorbuje 212,025 g vode), što je preko 10 puta više nego u radovima autora Brazela i Peppasa (Brazel i Peppas. Synthesis and Characterization of Thermo-and Chemomechanically Responsive Poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) Hydrogels. *Macromol.* **28**(24) (1995) 8016-8020; Brazel i Peppas. Pulsatile local delivery of thrombolytic and antithrombotic agents using poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels. *J. Control. Rel.* **39** (1996) 57-64).

Prednosti postupka sinteze poli(N-izopropilakrilamid-ko-metakrilna kiselina) prema predmetnom pronalasku u odnosu na poznate postupke opisane u stanju tehnike su sledeći:

- novi postupak sinteze hidrogelova p(NIPAM/MAC), sa visokim kapacitetom apsorpcije;
- veći kapaciteti bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) i do 10 puta u odnosu na dobijene rezultate Brazela i Peppasa.
- mogućnost višestrukog korišćenja hidrogelova;
- novi proizvod superapsorbujući hidrogel p(NIPAM/MAC).

Prednost postupka liofilizacije sintetisanih hidrogelova poli(V-izopropilakrilamid-ko-metakrilna kiselina) prema pronalasku ogleda se u bržoj apsorpciji fluida nakon liofilizacije u odnosu na ne-liofilizovane hidrogelove.

Kratak opis slika nacrta:

Slika 1 prikazuje HPLC hromatogram metanolnog ekstrakta kopolimera p(NIPAM/MAC) sa prikazom UV spektara reaktanata NIPAM-a, MAC i EGDM-a.

Slika 2 prikazuje kalibracione krive NIPAM-a (a), MAC (b) i EGDM-a (c).

Slika 3 prikazuje FTIR spektre NIPAM-a (a), MAC (b), EGDM-a (c), p(NIPAM/MAC) sa 95/5/1.5 (d) i 90/10/1,5 (e).

Slika 4 prikazuje difraktograme kopolimera p(NIPAM/MAC).

Slika 5 prikazuje SEM mikrografije liofilizovanih uzoraka hidrogelova p(NIPAM/MAC) 95/5/1.5 (a i b) i 90/10/1,5 (c i d).

Slika 6 prikazuje zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 5 i 10 mol% MAC od vremena u rastvorima pH vrednosti: 2,2 (a i b), 4,5 (c i d), 6,8 (e i f) i 9,1 (g i h) na 25 °C.

Slika 7 prikazuje uticaj sadržaja komonomera MAC i pH vrednosti na ravnotežno bubrenje hidrogelova p(NIPAM/MAC) na 25 °C.

Slika 8 prikazuje zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) od temperature u rastvoru pH 6.

Slika 9 prikazuje zavisnosti procesa bubrenja serije hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 5 i 10 mol% MAC od vremena pre (a i c) i posle liofilizacije (b i d) u rastvoru pH vrednosti 6 na 25 °C.

Slika 10 prikazuje reverzibilnost bubrenja hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa promenom temperature od 25 do 70 °C kroz 3 ciklusa naizmeničnog bubrenja i kontrahovanja.

U nastavku su dati primeri koji detaljnije objašnjavaju različite faze postupka sinteze i karakterizacije hidrogelova p(NIPAM/MAC).

PRIMER 1: Sinteza hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 5 mol % MAC

Za sintezu serije hidrogelova p(NIPAM/MAC) odmereno je po 490 mg *N*- izopropilakrilamida, formule I, kao i adekvatne mase metakrilne kiseline, formule II, u količini od 5 mol%, dodato je po 10 mg inicijatora benzoil-peroksida i 1,5, 2 i 3 mol% umreživača etilenglikoldimetakrilata, računato u odnosu na količinu monomera. Reakcione smeše su rastvorene u acetonu i nakon homogenizacije su ubrizgane u staklene ampule, zatvorene zatapanjem slakla. Termički režim polimerizacije trajao je 40 min na 60 °C, 60 min na 80 °C i 40 min na 90 °C. Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) izdvojeni su iz staklenih ampula, isečeni na tanke diskove debljine oko 2-3 mm i prelivevi 99% metanolom radi ekstrakcije neproreagovanih reaktanata. Nakon 48 h se dekantuje metanolni rastvor, hidrogelovi se ispiraju rastvorima metanol/destilovana voda u odnosu 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 i 0/100% v/v po 24 h, nabubrela hidrogelovi se suše na 40 °C do konstantne mase.

PRIMER 2: Sinteza hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 10 mol % MAC

Serijski hidrogelovi p(NIPAM/MAC) sintetisani su odmeravanjem po 550 mg NIPAM-a, formule I, adekvatnih masa metakrilne kiseline, formule II, u količini od 10 mol%. Dodavanjem po 9 mg inicijatora 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) i 1,2 i 3 mol% umreživača etilenglikoldimetakrilata,

računato u odnosu na ukupnu količinu monomera. Reakcione smeše su rastvorene u metanolu i nakon homogenizacije su ubrizgane u staklene ampule, zatvorene zatapanjem stakla. Termički režim polimerizacije trajao je 20 min na 50 °C, 50 min na 76 °C i 20 min na 95 °C. Sintetisani hidrogelovi p(NJPAM/MAC) su tretirani prema postupku opisanom u primeru 1.

PRIMER 3: Sinteza hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 8 mol % MAC

Odmereno je po 650 mg NIPAM-a, formule I, dodata je adekvatna masa metakrilne kiseline, formule II, u količini od 8 mol%, zatim po 13 mg inicijatora dikumilperoksida i 1, 2 i 3 mol% umreživača divinilbenzena, računato u odnosu na ukupnu količinu monomera. Reakcione smeše su rastvorene u 1,4-dioksanu i nakon homogenizacije su ubrizgane u staklene ampule, koje su zatvorene zatapanjem stakla. Termički režim polimerizacije trajao je 50 min na 70 °C, 110 min na 83 °C i 40 min na 95 °C. Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su tretirani prema postupku opisanom u primeru 1.

PRIMER 4: Sinteza hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 6 mol % MAC

Za sintezu p(NIPAM/MAC) hidrogelova odmereno je po 530 mg *N*-izopropilakrilamida, formule I, adekvatne mase metakrilne kiseline, formule II, u količini od 6 mol%, dodato je po 8 mg inicijatora natrijum metabisulfita i 1, 2 i 3 mol% umreživača *N,N'*-etilen-bis(akrilamida) računato u odnosu na količinu komonomera. Reakcione smeše su rastvorene u vodi i nakon homogenizacije su ubrizgane u staklene ampule, koje su zatvorene zatapanjem stakla. Termički režim polimerizacije trajao je 50 min na 70 °C, 110 min na 83 °C i 40 min na 95 °C. Sintetisani hidrogelovi p(NIPAM/MAC) su tretirani prema postupku opisanom u primeru I.

PRIMER 5: Bubrenje hidrogelova p(NIPAM/MAC)

Nakon ekstrakcije neporeagovanih reaktanata, odmerene količine kserogelova p(NIPAM/MAC) su prelivene rastvorima pH vrednosti 2,2; 4,5, 6,8 i 9,1. Proces bubrenja je praćen gravimetrijski na temperaturama od 25, 31 i 37 °C. Uzorci su vadeni iz rastvora, odstranjivan je višak rastvora sa površine i merena je masa u određenim vremenskim periodima do postizanja ravnoteže tj. konstantne mase. Step en bubrenja, α , je izračunavan prema jednačini (I). U tabeli 4 prikazani su rezultati ravnotežnog bubrenja, α_e , hidrogelova p(NIPAM/MAC) sa 10 mol% MAC na definisanim pH vrednostima.

Tabela 4: Ravnotežni stepeni bubrenja, α_c , hidrogelova p(NIPAM/MAc) na definisanim pH vrednostima i temperaturama

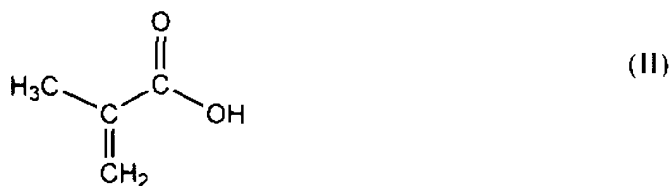
Temperatura	pH vrednost	Ravnotežni stepen bubrenja, α_c , p(NIPAM/MAc)		
		95/10/1,5	90/10/2	90/10/3
25	2,2	16,547	12,110	6,282
31	2,2	14,874	10,651	5,767
37	2,2	1,257	1,123	0,989
25	4,5	51,378	26,300	6,520
31	4,5	46,478	22,362	5,934
37	4,5	2,022	1,493	1,199
25	6,8	89,718	69,081	49,396
31	6,8	78,917	60,654	41,359
37	6,8	2,532	4,376	1,338
25	9,1	212,025	197,348	102,646
31	9,1	176,589	166,741	89,257
37	9,1	12,116	10,864	9,689

PATENTNI ZAHTEVI

1. Postupak sinteze termo- i pH osetljivih hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamida-*ko*-metakrilna kiselina) reakcijom monomera *N*-izopropilakrilamida, strukturne formule I



i metakrilne kiseline, strukturne formule II

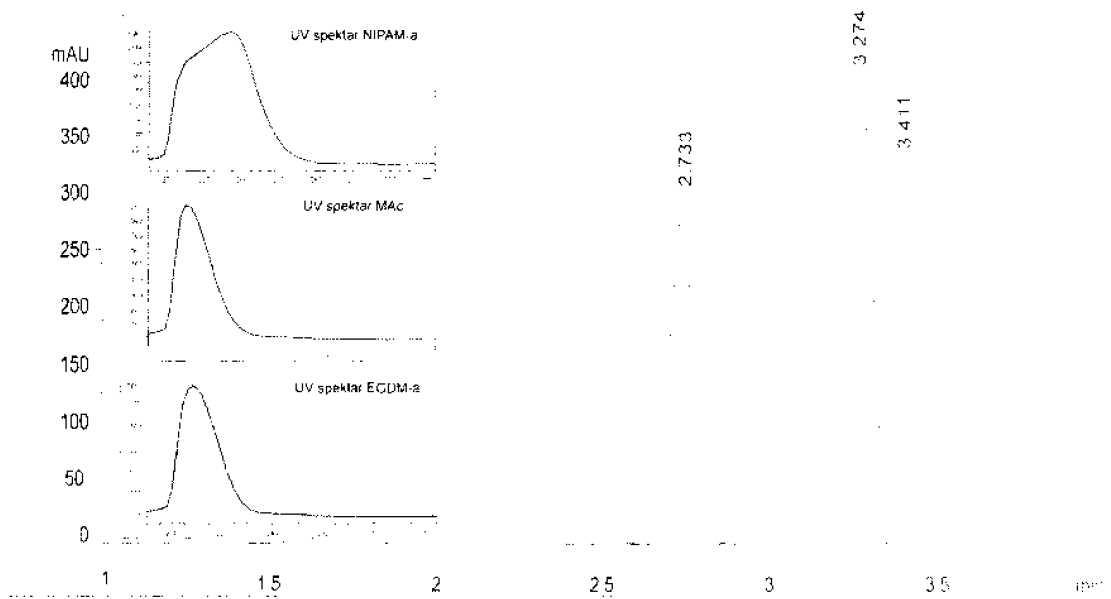


u prisustvu umreživača *N,N*-metilen-bis(akrilamida), *N,N'*-etilen-bis(akrilamida), etilenglikoldimetakrilata ili divinilbenzena i inicijatora iz grupe: azo-jedinjenja, kao što je 2,2'-azobis(2-metilpropionitril), peroksida, kao što su: benzoil-peroksid, *t*-butilperoktanoat.

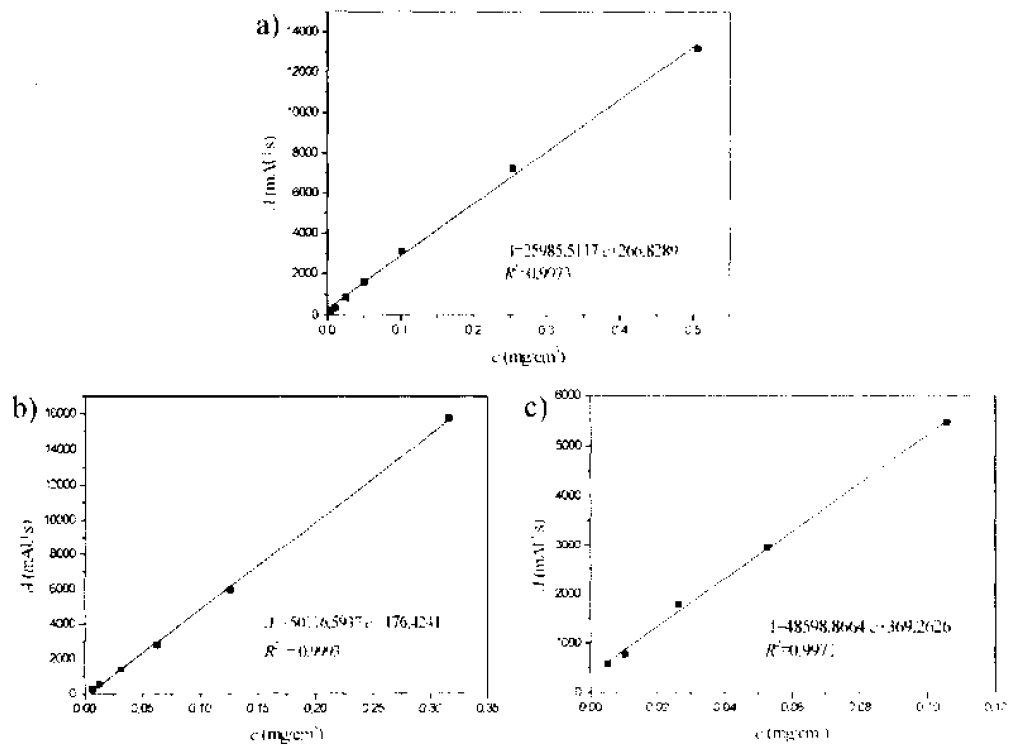
kumilhidroperoksid, dikumilperoksid, cikloheksil-hidroperoksid; ili persulfata, kao što su: kalijum persulfat, amonijum persulfat, ili natrijum metabisulfit, ili redoks inicijatori za polimerizacije u vodi (kalijum persulfat ili amonijum persulfat u kombinaciji sa kalijum metabisulfitom ili natrijum metabisulfitom), ili *N,N,N',N'*-tetrametilendiamin; u prisustvu rastvarača, kao što su: 1,4-dioksan, aceton, metanol, voda, ili etanol. prvenstveno metanol ili aceton, **naznačen time**, što se rastvorena i homogenizovana reakciona smeša u zatvorenoj staklenoj ampuli podvrgne termičkoj polimerizaciji sa temperaturnim režimom: 20 do 40 min na 50 do 75 °C, 50 do 150 min na 75 do 85 °C i 20 do 40 min na 85 do 95 °C, nakon hlađenja se dobijeni hidrogelovi seku u vidu tankih diskova, prelivaju rastvorom 99% metanola tokom 48 h. potom se dekantuje metanolni rastvor, hidrogelovi se prelivaju rastvorima metanol/destilovana voda u odnosu 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 i 0/100% v/v po 24 h, nabubrela hidrogelovi se suše na 40 °C do konstantne mase.

2. Postupak prema patentnom zahtevu 1, **naznačen time** što je molski odnos komonomera u opsegu od 0,01 do 50 mol% metakrilne kiseline, prvenstveno u opsegu od 5 do 10 mol% metakrilne kiseline, u odnosu na količinu monomera *N*-izopropilakrilamida.
3. Postupak prema patentnim zahtevima 1 i 2, **naznačen time** što je odnos umreživača prema ukupnoj količini monomera od 0,1 mol% do 10 mol%, prvenstveno od 1 do 3 mol%.

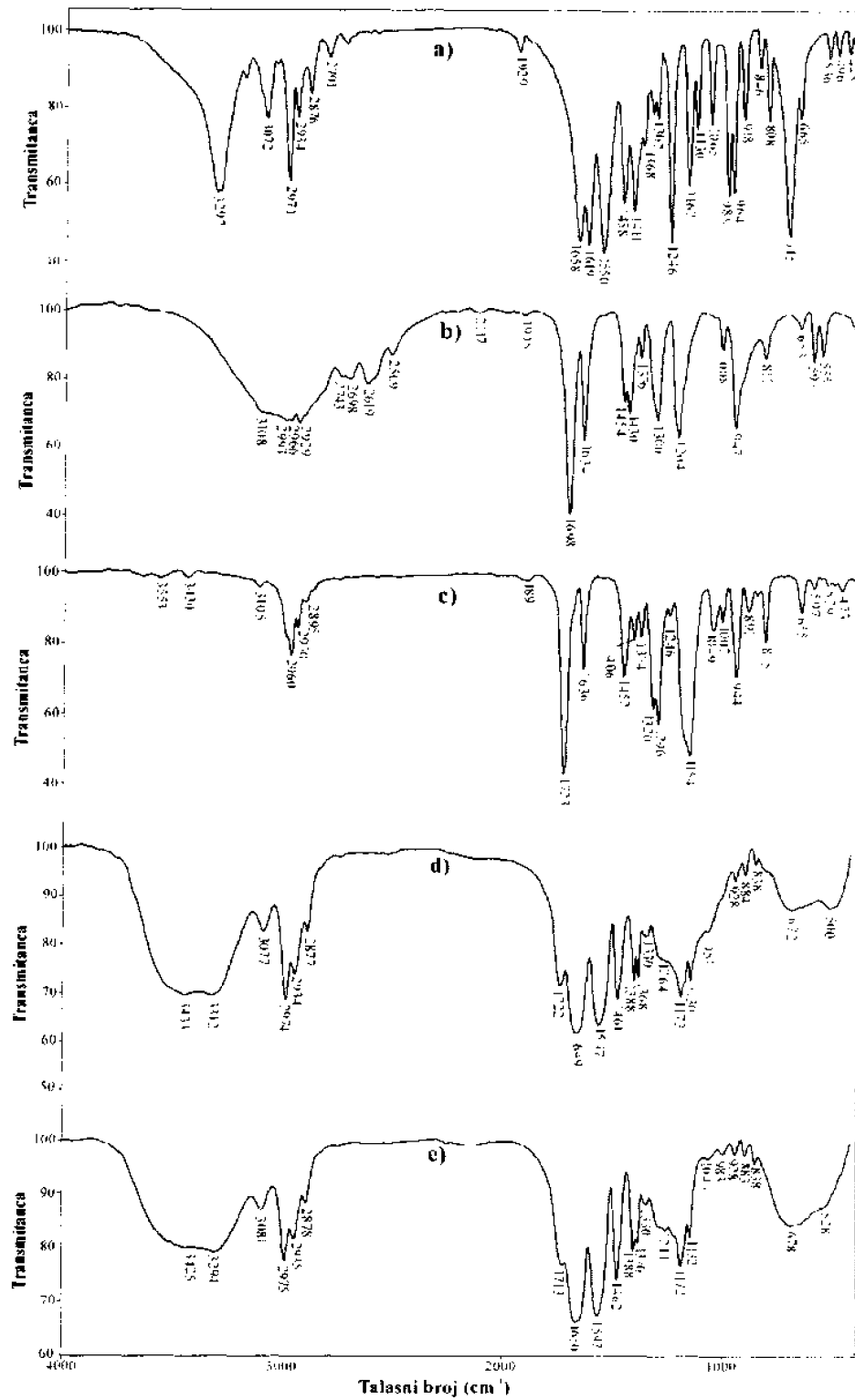
4. Hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina) dobijen prema bilo kom od prethodnih patentnih zahteva, **naznačen time** što ima stepen bubrenja, α , od 102,460 do 212.025 na 25 °C i pH 9,1.
5. Hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina) prema zahtevu 4, **naznačen time** što ima vreme bubrenja od 1 do 72 sata.
6. Postupak liofilizacije hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamida-*ko*-metakrilna kiselina). dobijenih prema patentnim zahtevima od 1 do 3, **naznačen time** što se hidrogelovi najpre brzo zamrzavaju na temperaturi od -30 do -70 °C za vreme od 5 do 50 min, zatim se podvrgavaju sublimaciji pri temperaturi od -30 do 0 °C i pritisku od 50 pbar tokom 3 do 40 h, prvenstveno 24 do 36 h. a zatim normalnom vakuum sušenju od -20 do 0 °C tokom 2 do 24 h i pritisku od 60 μ bar.
7. Liofilizovani hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina), dobijen prema postupku navedenom u patentnom zahtevu 5, **naznačen time** što ima veličinu pora u nabubreloom stanju od 5 do 150 μ m.
8. Liofilizovani hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina), **naznačen time** što dostiže stepen bubrenja, α , od od 28,928 do 87,616.
9. Liofilizovani hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-metakrilna kiselina) prema zahtevu 8. **naznačen time** što ima vreme bubrenja od 60 do 90 min.



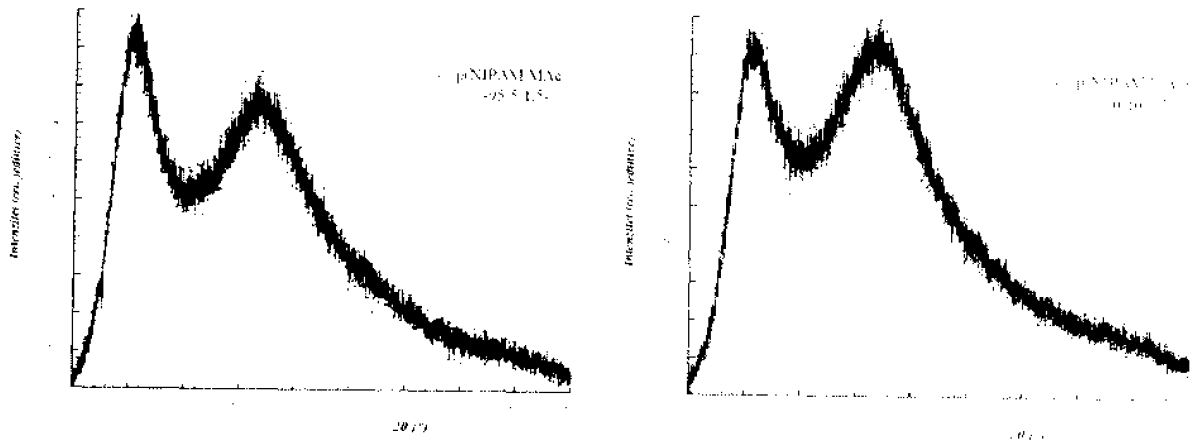
Slika 1.



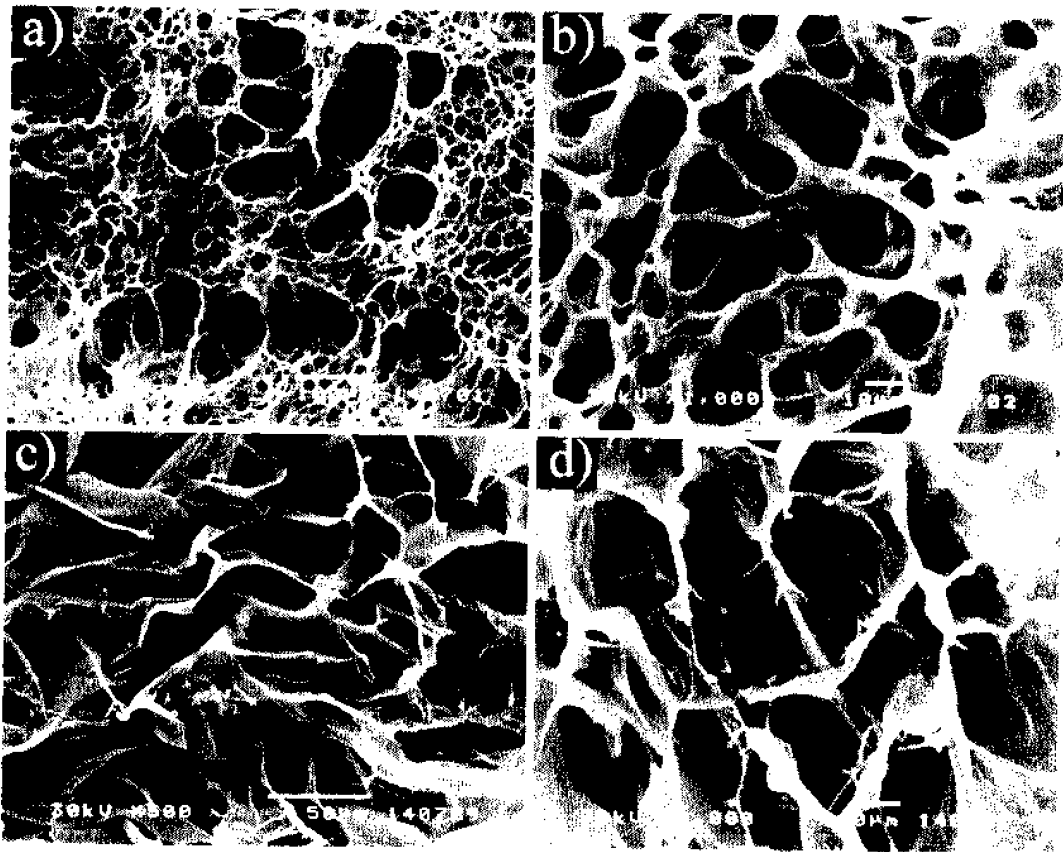
Slika 2.



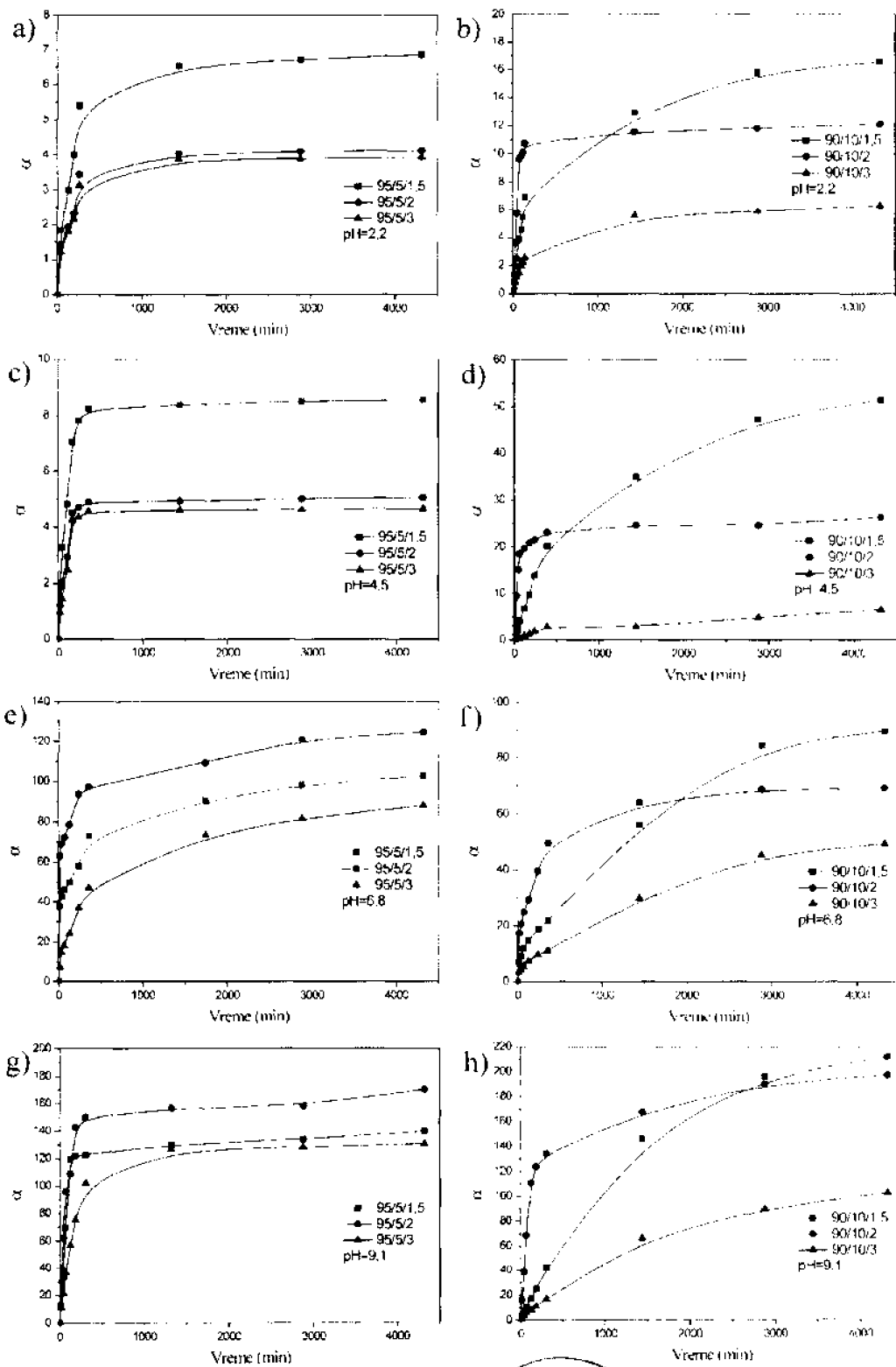
Talasni broj (cm⁻¹)
Slika 3.



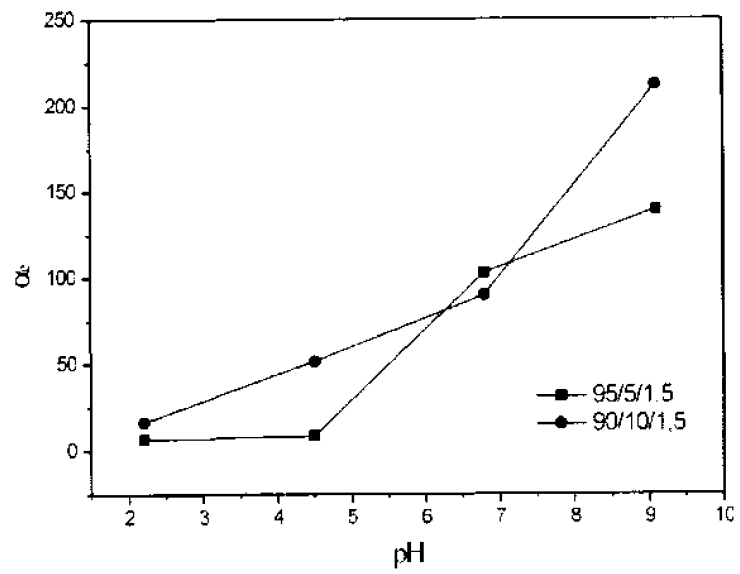
Slika 4.



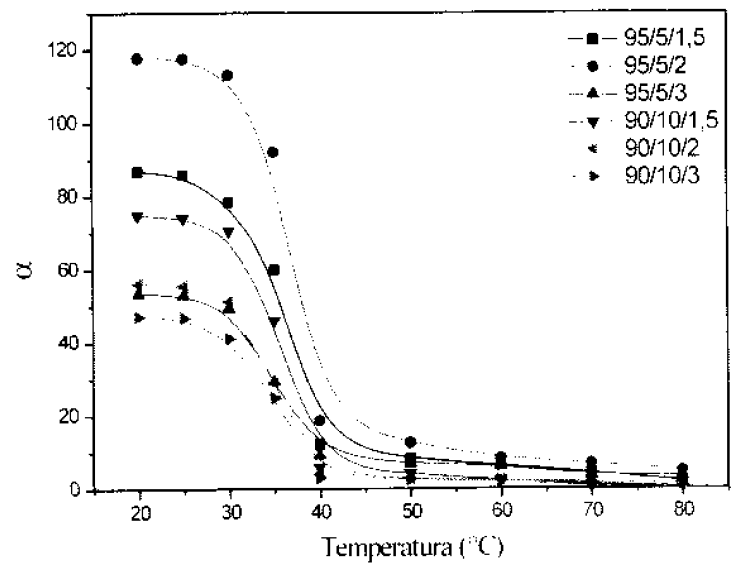
Slika 5.



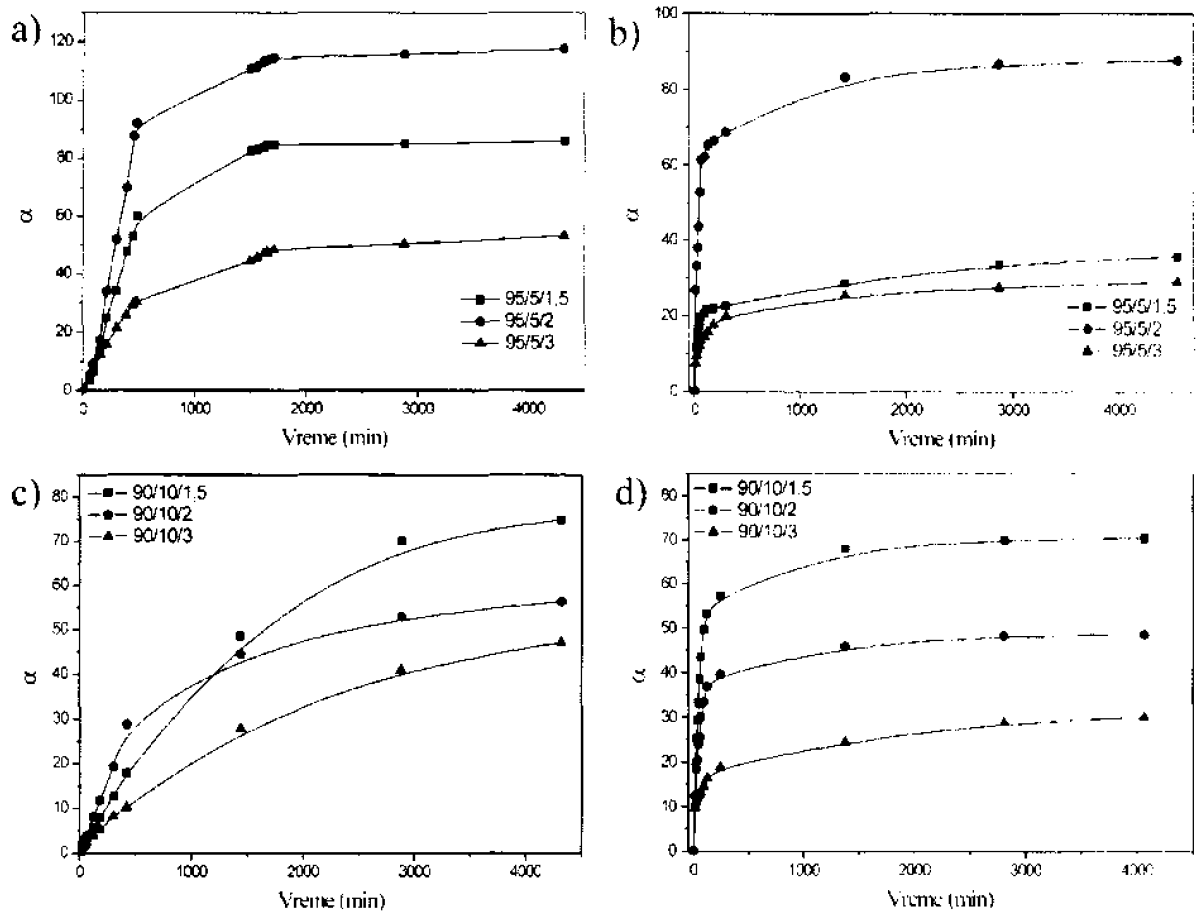
Slika 6.



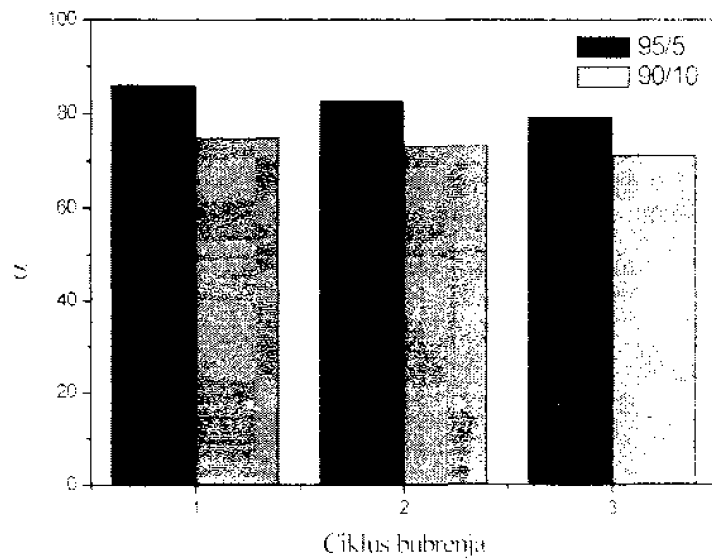
Slika 7.



Slika 8.



Slika 9



Slika 10.