

(19) REPUBLIKA SRBIJA

(12) Patentni spis

(11) **59327 B1**



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-2016/1134**  
(22) Datum podnošenja prijave: **15.12.2016.**  
(43) Datum objavljivanja prijave: **30.06.2017.**  
(45) Datum objavljivanja patenta: **31.10.2019.**  
(30) Pravo prvenstva:

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

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

(54) Naziv: **POSTUPAK SINTEZE SUPERAPSORBUJUĆIH HIDROGELOVA OSETLJIVIH NA PROMENE TEMPERATURE I pH VREDNOSTI**

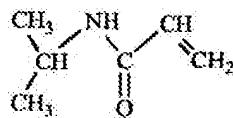
(57) Apstrakt:

Pronalazak se odnosi na postupak dobijanja superapsorbujućih hidrogelova osetljivih na promene temperature i pH vrednosti na bazi pV-izopropilakrilamida i akrilne kiseline. Sinteza komonomera je izvedena metodom radikalne polimerizacije u prisustvu adekvatnih umreživača, inicijatora i rastvarača. Strukturna karakterizacija hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) izvedena je primenom metoda infracrvene spektroskopije (FTIR), skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) i difrakcije X-zraka (XRD). Ponašanje hidrogelova pri bubrenju je ispitano u zavisnosti od pH vrednosti fluida (2,2-9,1) i temperature u opsegu 20-80°C. Hidrogelovi nakon liofilizacije brže bubre i postižu veći kapacitet apsorpcije okolnog fluida. Sintetisani hidrogelovi poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) mogu se primeniti kao superapsorbujući materijali.

RS 59327 B1

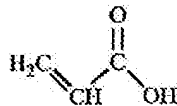
**OBLAST TEHNIKE**

Predloženi pronalazak je iz oblasti polimernih proizvoda i odnosi se na novi postupak sinteze kopolimernih hidrogelova osjetljivih na promene pH vrednosti i temperature na bazi izopropilakrilamida, strukturne formule I



(I)

i akrilne kiseline, strukturne formule II



(II)

u prisustvu adekvatnih umreživača i inicijatora i na njihove potencijalne primene kao savremenih apsorbera za velike količine različitih fluida i nosača za oslobađanje aktivnih supstanci.

Prema Međunarodnoj klasifikaciji (MKP) patenata ovaj pronalazak pripada klasama: C08F 6/06, C08F 20/06, C08F 220/06, C08F 220/56 i C08L 33/26.

## TEHNIČKI PROBLEM

Tehnički problem koji se rešava se predmetnim pronalaskom je dobijanje hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilne kiseline), p(NiPAAm/AAc), osetljivih na promene pH vrednosti i temperature i sa neočekivano visokim kapacitetom bubrenja i kraćim vremenom apsorpcije okolnog fluida. Karakterizacija sintetisanih hidrogelova p(NiPAAm/AAc) izvršena je metodama infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR), difrakcije X- zraka (XRD) i skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Određivanje neproreagovanih količina reaktanata u reakciji polimerizacije i čistoće dobijenih proizvoda izvršeno je metodom tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC). Analiziran je uticaj faktora okolnog fluida (pH i temperature) na stepen bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc). Hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) nakon liofilizacije u rastvoru pH 6 na 25°C brže dostižu ravnotežne stepene bubrenja u poređenju sa ne-liofilizovanim uzorcima. Rezultati bubrenja ukazuju da se hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) mogu klasifikovati kao superapsorbujući polimeri (SAPs). U dostupnom stanju tehnike sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) postižu manje kapacitete bubrenja i apsorpcije fluida.

## STANJE TEHNIKE

Hidrogelovi osjetljivi na spoljne stimulanse su trodimenzionalne polimerne mreže, koji reaguju na promene pH, jonske jačine ili temperature, pri čemu dolazi do značajnih promena u propustljivosti ili mehaničkoj jačini mreže, bubrenju i prelasku iz sol u gel stanje (N.A. Peppas, Physiologically responsive gels. *J. Bioact. Compat. Polym.* 6 (1991) 241-246). Temperaturno-osjetljivi hidrogelovi bubre ili se kontrahuju kao rezultat promene temperature okolnog medijuma (A. Kikuchi et al, Temperature-responsive polymers as on-off switches for intelligent biointerfaces, in: T. Okano (Eds.) Biorelated Polymers and Gels, *Academic Press, Boston*, (1998) 1-28). Polimeri sa slabo jonizujućim funkcionalnim grupama koje mogu da vezuju ili otpuštaju protone kao odgovor na promenu pH sredine, nazivamo pH-osetljivim polimerima (B. Jeong, et al, Lessons from nature: stimuli responsive polymers and their biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 20 (2002) 7:305-311; R. Mohsen, et al, Design, synthesis, characterization and toxicity studies of poly(*N*-isopropylacrylamide-colucifer yellow) particles for drug delivery applications. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 7 (2016) 2:1-10). Kod ovih polimera promena pH sredine generiše naelektrisanje duž lanaca između kojih se javlja elektrostatičko odbijanje, što uzrokuje povećanja hidrodinamičkog volumena polimera (R. Mohsen, et al, Design, synthesis, characterization and toxicity studies of poly(*N*- isopropylacrylamide-colucifer yellow) particles for drug delivery applications. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 7 (2016) 2:1-10).

Na karakteristike bubrenja i kontrahovanja temperaturno-osetljivih hidrogelova može se značajno uticati inkorporacijom hidrofilnih ili hidrofobnih komonomera (A. Gutowska, et al, Heparin release from thermosensitive hydrogels. *J. Control. Release* (1992) 95-104). Jedan od značajnih polimera osjetljivih na spoljne stimulanse je temperaturno osjetljivi hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid), p(NiPAAm), koji ima donju kritičnu temperaturu rastvora (LCST) 31°C u vodi (M. Heskins, J. E. Guillet, Solution Properties of poly(*N*-isopropylacrylamide). *J. Macromol. Sci. Pure. Appl. Chem.* 2 (1968) 8:1441-1455). Uvođenjem jonskog hidrofilnog komonomera (akrilna, metakrilna, itakonska, maleinska, ...) postiže se osjetljivost kopolimera na promenu pH sredine [J.L. Velada, et al, Effect of pH on the swelling behaviour of hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide with acidic comonomers. *Macromol. Chem. Physic.* 199 (1998) 6:1127-1134; C. Lin, et al, Preparation, morphology, and

thermoreponsive properties of poly(*N*-isopropylacrylamide)-based copolymer microgels. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **44** (2006) 1:356-370). Inkorporacijom hidrofilnog monomera kao što je akrilna kiselina, AAc, u strukturi homopolimera p(NiPAAm)-a dobijaju se hidrogelovi većeg stepena apsorpcije vode i veće donje kritične temperature rastvora (LCST) koja je bliska fiziološkoj temperaturi tela (B. Vernon, et al, Thermoreversible copolymer gels for extracellular matrix. *J. Biomed. Mater. Res.* **51** (2000) 1:69-79; X. Lin, et al, Stimuli- responsive electrospun nanofibers from poly(*N*-isopropylacrylamide)-co-poly(acrylic acid) copolymer and polyurethane. *J. Mater. Chem. B* **2** (2014) 651-658).

Hidrogel na bazi NiPAAm-a i AAc sadrži slabo jonizujuće grupe, karboksilnu (COOH) i amino (NH<sub>2</sub>), i pokazuje promene konformacije lanaca u zavisnosti od pH okolnog medijuma. Na višim pH vrednostima (iznad pKa AAc) karboksilne grupe su jonizovane (COO<sup>-</sup>) i između njih se javlja elektrostatičko odbijanje, što uzrokuje porast stepena bubrenja hidrogela. Na pH vrednostima manjim od pKa AAc karboksilne grupe su protonovane (COOH) i hidrogel se kontrahuje. Amino grupe su na nižim pH vrednostima okolnog medijuma protonovane (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) i nastale elektrostatičke odbojne sile između njih povećavaju hidrofilnost mreže i bubrenje hidrogela (R. Mohsen, et al, Design, synthesis, characterization and toxicity studies of poly(*N*-isopropylacrylamide-co-lucifer yellow) particles for drug delivery applications. *J. Nanomed. Nanotechnol.* **7** (2016) 2:1-10; C. Alvarez-Lorenzo, et al, Reversible adsorption by a pH- and temperature-sensitive acrylic hydrogel. *J. Control. Rel.* **80** (2002) 1-3:247-257; J.K. Cho, et al, Tunable attractive and repulsive interactions between pH- responsive microgels. *SoftMatter* **5** (2009) 3599-3602; S.R. Tonge, et al, Responsive hydrophobically associating polymers: a review of structure and properties, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **53** (2001) 1:109-122). U dostupnoj literaturi hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) su sintetisani emulzionom polimerizacijom (J.J. Chen, et al, Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels for copper ion adsorption: Equilibrium isotherms, kinetic and thermodynamic studies. *J. Environ. Chem. Eng.* **1** (2013) 339—348), polimerizacijom u rastvoru i to radikalnom (S. Champ, et al, Concentrating aqueous solutions of water soluble polymers by thermoreversible swelling of poly[(*N*-isopropylacrylamide)-co-(acrylic acid)] hydrogels. *Macromol. Chem. Phys.* **201**, 931—940(2000), W. Cai, et al, Separation of Lignin from Aqueous Mixtures by Ionic and Nonionic Temperature-Sensitive Hydrogels. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, 40,2283-2288) i polimerizacijom  $\gamma$  zracima (izvor 60Co) (Y. Pei, et al, The effect

of pH on the LCST of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide-co- acrylic acid), *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* **15** (2004) 585-594) uz korišćenje metilenbisakrilamida (BIS) kao umreživača. Kopolimeri p(NiPAAm/AAc) mogu se primeniti u sistemima za isporuku lekovite supstance (M. Adimi, et al, Experimental investigation and modeling of the anti-cancer drug delivery from poly(*N*-isopropylacrylamide-co Acrylic acid) copolymeric hydrogels. *Int.J. Biosci.* **5** (2014) 2:183-191), adsorpciju teških metala iz rastvora (J.J. Chen, et al, Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels for copper ion adsorption: Equilibrium isotherms, kinetic and thermodynamic studies. *J. Environ. Chem. Eng.* **1** (2013) 339-348) kao i za koncentrisanje rastvora različitih jedinjenja (lignin, polietilenoksid, plavi dekstran) (W. Cai, et al, Separation of Lignin from Aqueous Mixtures by Ionic and Nonionic Temperature-Sensitive Hydrogels. *Ind. Eng. Chem. Res.* **40** (2001) 2283- 2288, S. Champ, et al, Concentrating aqueous solutions of water soluble polymers by thermoreversible swelling of poly[(*N*-isopropylacrylamide)-co-(acrylic acid)] hydrogels. *Macromol. Chem. Phys.* **201** (2000) 931-940). Ravnotežni stepen bubrenja u vodi sintetisanog kopolimernog hidrogela sa 10 mol% AAc u radu Champ-a i saradnika (S. Champ, et al, Concentrating aqueous solutions of water soluble polymers by thermoreversible swelling of poly[(*N*-isopropylacrylamide)-co-(acrylic acid)] hydrogels. *Macromol. Chem. Phys.* **201** (2000) 931-940) iznosi od 16-64, dok u radu Pei i saradnika (Y. Pei, et al, The effect of pH on the LCST of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid), *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* **15** (2004) 585-594) kopolimer sa 9,59 mol% AAc pokazuje stepen bubrenja od oko 28.

Superapsorbujući polimeri (SAPs) su slabo umreženi hidrogelovi koji mogu da apsorbuju i zadržavaju velike količine vode, od 100 do 1000 puta veće od njihove težine u suvom stanju ( $1000 \text{ g/g}_{\text{kserogela}}$ ) (M.J. Zohuriaan-Mehr, et al, Superabsorbent polymer materials: A Review. *Iran. Polym. J.* **17** (2008) 6:451-477; F.L. Buchholz, et al, Modern superabsorbent polymer technology, *Wiley-VCH, New York*, (1998); B.H. Cipriano, et al, Superabsorbent Hydrogels That Are Robust and Highly Stretchable. *Macromolecules* **47** (2014) 4445-4452). Osnovni preduslov za primenu hidrogelova kao superapsorbujućih materijala je postojanje jakih odbojnih sila između funkcionalnih grupa istog nalektrisanja u strukturi. Karakteristike ovih polimera su: super-visoki adsorpcijski kapacitet, nezavisnost u širokom opsegu pH vrednosti, laka regeneracija i ponovna upotreba (Y. Zheng, et al,

Superadsorbent with three-dimensional networks: From bulk hydrogel to granular hydrogel. *Eur. Polym. J.* **72** (2015) 661-686). Hidrogelovi visokih apsorpcionih kapaciteta mogu biti sintetisani kopolimerizacijom AAc sa prirodnim polimerima (želatinizirani kukuruzni skrob, karboksimetilceluloza) (H.L.A. El-Mohdy, et al, Characterization of starch/acrylic acid superabsorbent hydrogels prepared by ionizing radiation. *J. Macromol.Sci., Pure Appl.Chem.* **43** (2006) 1051-1063; J. Yu, et al, Synthesis, Characterization, and swelling behaviors of acrylic acid/carboxymethyl cellulose superabsorbent hydrogel by glow-discharge electrolysis plasma. *Polym. Eng. Sci.* **54** (2014) 10:2310-2320) i sintetičkim monomerima poput kalijum akrilata (AK), NIPAM-a, soli kalijum sulfopropil metakrilata (SPN) (W.A. El-Tohamy, et al, Application of super absorbent hydrogel poly(acrylate/acrylic acid) for water conservation in sandy soil. *TESCE* **40** (2014) 2:1-8; A.A.L. Gonçalves, et al, Synthesis and characterization of high performance superabsorbent hydrogels using bis[2- (methacryloyloxy)ethyl] phosphate as crosslinker. *Express Polym. Lett.* **10** (2016) 3:248-258). SAPs imaju primenu za izradu jednokratnih pelena, farmaceutskih doziranih oblika, ambalaže, guma koje bubre pri dodiru sa vodom, gelova za gašenje požara, kao i za kondicioniranje zemljišta i zadržavanje vode u tlu (K. Kabiri, et al, Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: a review. *Polym. Composite* **32** (2011) 2:277-289).

Predmetnim pronalaskom rešava se problem sinteze pH- i temperaturno-osetljivih hidrogelova na bazi A-izopropilakrilamida (NiPAAm) i akrilne kiseline (AAc). U dostupnoj literaturi nisu pronađeni podaci o dobijanju hidrogelova p(NiPAAm/AAc) visokim kapacitetom i velikom brzinom bubrenja prema postupku navedenom u predmetnom pronalasku.

## OPIS PRONALASKA SA PRIMERIMAIZVOĐENJA

### Sinteza hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina)

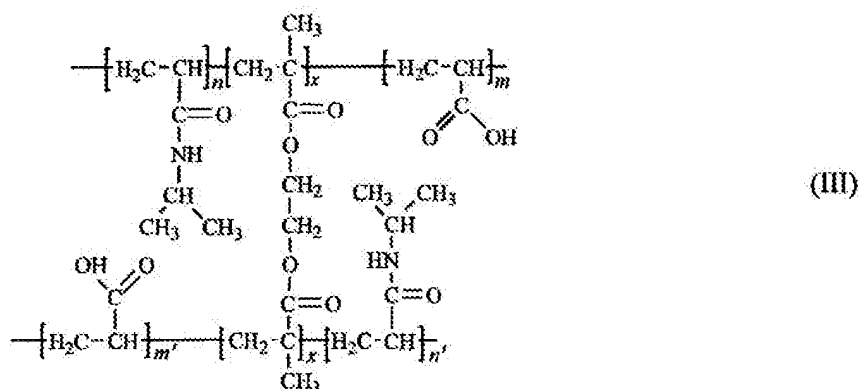
Predmet pronalaska je novi postupak sinteze kopolimernih pH- i temperaturno osjetljivih hidrogelova na bazi monomera *N*-izopropilakrilamida, strukturne formule I



i akrilne kiseline, strukturne formule II



uz upotrebu adekvatnih umreživača i inicijatora, kao i na njihovu primenu za apsorpciju velikih količina fluida. Sintetisani hidrogelovi poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina), potencijalne strukturne formule III,



okarakterisani su u pogledu hemijske strukture metodama infracrvene spektroskopije sa Furijevom transformacijom (FTIR), skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) i difrakcijom X-zraka (XRD). Hidrogelovima p(NiPAAm/AAc) je ispitano stepen bubrenja u zavisnosti od pH vrednosti (u opsegu od 2,2 do 9,1) i temperature (u opsegu od 20 do 80°C). Sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) pokazuju neočekivano visok stepen bubrenja, tako da su pogodni za apsorpciju velikih količina tečnosti. Predmetnim pronalaskom rešava se problem dobijanja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa visokim kapacitetom bubrenja i velikom brzinom bubrenja.



Umreženi kopolimeri *N*-izopropilakrilamida, strukturne formule I, sa različitim sadržajem akrilne kiseline, strukturne formule II, (u opsegu od 0,01 do 50 mol%, prvenstveno u opsegu 5 do 15 mol%) sintetisani su korišćenjem umreživača, kao što su: *N,N*-metilenbis(akrilamid), etilenglikoldimetakrilat, divinilbenzen. Primenjen je molski sadržaj umreživača u opsegu od 0,1 mol% do 10 mol% (prvenstveno u opsegu od 1 do 3 mol%). Za iniciranje procesa polimerizacije korišćena su jedinjenja iz grupe peroksida, npr. 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 inicijatori za polimerizacije u vodi (kao što su kalijum persulfat ili amonijum persulfat u kombinaciji sa kalijum metabisulfitom ili natrijum metabisulfitom), ili *N,N,N',N'*-tetrametilendiamin. Reakciona smeša rastvarana je primenom rastvarača kao što su 1,4-dioksan, aceton, metanol, voda, ili etanol, prvenstveno metanol i aceton. Reaktanti su rastvoreni i nakon homogenizacije ubrizgani u staklene cevi.

Reakciona smeša inicirana je termički ili UV-,  $\gamma$ -, ili X-zračenjem. Termičko iniciranje polimerizacije izvodi se pri sledećem režimu zagrevanja: od 10 do 60 min na temperaturi od 20 do 75°C, zatim 20 do 150 min na temperaturi u opsegu od 75 do 85°C, i na kraju 10 do 60 min na temperaturi od 85 do 100°C. Dobijeni hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) se nakon hlađenja izdvajaju iz staklenih cevi, seku u vidu tankih diskova debljine 1 do 2 mm. Sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) prelivaju se rastvorom 99% metanola, tokom 3 dana radi uklanjanja neproreagovalih reaktanata nakon sinteze. Zatim se hidrogelovi prelivaju rastvorom metanol/destilovana voda u zapreminskom odnosu 75/25, 50/50, 25/75 i 0/100%, po jedan dan. Sušenje hidrogelova vrši se u sušnici na temperaturi od 20 do 40°C do konstantne mase. Nakon sušenja, uzorci sintetisanih hidrogelova p(NiPAAm/AAc) dovedenih u stanje kserogelova čuvaju se u eksikatoru.

### **Analiza rezidualnih monomera i umreživača**

Sintetisani hidrogelovi moraju biti ekstrahovani odgovarajućim rastvorom u cilju uklanjanja nečistoća (rezidualni reaktanti). Ekstrahovane rastvore je potrebno analizirati na sadržaj rezidualnih monomera i inicijatora, jer je toksičnost polimernih biomaterijala najčešće uzrokovana njima (P.H.H. Ararajo, et al, Techniques for reducing residual monomer content in polymers: A review, *Polym. Eng. Sci.* **42** (2002) 7:1442-1468). Stoga su metanolni rastvori,

dobijeni nakon ekstrakcije i dekantovanja, analizirani primenom metode tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) u cilju kvalitativnog i kvantitativnog određivanja sadržaja i količine monomera i umreživača koji nisu učestvovali u reakcijama polimerizacije.

Snimanja su vršena na HPLC uređaju Agilent 1100 serije (Waldborn, Germany) sa kolonom Zorbax Eclipse XDB-C18 (5mm, 4,6x250 mm) na 25°C. Metanol je korišćen kao mobilna faza, sa brzinom protoka od 1 cm<sup>3</sup>/min, a injektirano je po 10µl uzoraka. Detekcija je vršena na detektoru DAD Agilent 1200 serije na talasnim dužinama od 205 nm za AAc i EGDM, a 220 nm za NiPAAm. Za konstruisanje kalibracionih krivih pripremljene su serije standardnih rastvora poznatih koncentracija. Uzorci su filtrirani na Ekono-filteru prečnika pora 0,45 µm i korišćeni za HPLC analizu. Na slici 1 prikazan je HPLC hromatogram metanolnog rastvora dobijenog ekstrakcijom kopolimera p(NiPAAm/AAc) sa UV spektrima reaktanata. Pri izabranim uslovima hromatografisanja, monomer NiPAAm ima vreme retencije,  $R_t = 3,272$  min, komonomer AAc  $R_t = 2,567$  min, a umreživač EGDM  $R_t = 3,408$  min. Na osnovu konstruisanih kalibracionih krivih za pravolinijski deo zavisnosti dobijene su jednačine 1, 2 i 3 za određivanje sadržaja NiPAAm-a, AAc i EGDM-a, respektivno.

$$A = 25985,51177 c + 266,82891 \quad (1)$$

$$A = 30756,2299 c - 51,25728 \quad (2)$$

$$A = 48598,8664 c + 673,25453 \quad (3)$$

gde je  $A$  površina pika (mAU\*s), a  $c$  je koncentracija reaktanata (mg/cm<sup>3</sup>). Neprореagovale količine rezidualnih monomera NiPAAm-a i AAc i umreživača EGDM-a u toku sinteze 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(NiPAAm/AAc) kopolimerima

Količine rezidualnih reaktanata u p(NiPAAm/AAc)						
Reaktant	NiPAAm		AAc		EGDM	
Oznaka uzorka	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%
90/10/1,5	1,937	0,212	0,103	0,175	0,101	0,382
90/10/2	3,364	0,371	0,178	0,305	0,095	0,272
90/10/3	1,511	0,169	0,065	0,114	0,072	0,140

Količine rezidualnih monomera u odnosu na dobijenu količinu kserogelova p(NiPAAm/AAc) kreću se u sledećim granicama: od 1,511 - 3,364 mg/g za NiPAAm, od 0,065 - 0,178 mg/g za AAc, i od 0,072 - 0,101 mg/g za EGDM (tabela 1).

Procentualni udeo neproreagovanih rezidualnih reaktanata u odnosu na njihovu količinu prisutnu u reakcionoj smeši pre polimerizacije je u opsegu za NiPAAm od 0,169 - 0,371% , za AAc od 0,114 - 0,305% i od 0,140 - 0,382% za EGDM.

Dobijeni sadržaji rezidualnih reaktanata su u prihvatljivim granicama i ukazuju na skoro potpunu konverziju reaktanata u kopolimer p(NiPAAm/AAc).

### **Karakterizacija hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina)**

#### **FTIR spektroskopija**

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

Na slici 2 prikazani su FTIR spektri monomera NiPAAm-a, AAc, umreživača EGDM- a i sintetisanog kopolimera p(NiPAAm/AAc), uzorak 90/10/1,5. U oznaci uzorka prvi broj predstavlja mol% NiPAAm-a, drugi broj mol% AAc, a treći mol% umreživača EGDM-a.

U FTIR spektru monomera NiPAAm-a (slika 2A) postoji apsorpciona traka jakog intenziteta sa maksimumom na 3297  $\text{cm}^{-1}$  koja je rezultat N-H valencionih vibracija sekundarne amino grupe,  $\nu(\text{N-H})$  (M. Kurečić, et al, UV polymerization of poly (*N*- isopropylacrylamide) hydrogel. *Mater. Technol.* **46** (2012) 1:87-91). U oblasti talasnih brojeva iznad 3000  $\text{cm}^{-1}$  karakteristična je i apsorpciona traka na 3072  $\text{cm}^{-1}$  koja se pripisuje asimetričnim vibracijama C-H veze iz vinilne grupe ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$ . Asimetrične i simetrične valencione vibracije C-H veze iz metil grupa daju trake sa maksimumima na 2971 i 2876  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno. Posledica vibriranja amidne grupe u strukturi NiPAAm-a su apsorpcione trake jakog intenziteta na 1658  $\text{cm}^{-1}$  (amidna traka I) i 1550  $\text{cm}^{-1}$  (amidna traka II), što je u skladu sa literaturnim podacima drugih autora (A.K. 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  $1619\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru monomera (slika 2A) se pripisuje valencionim vibracijama dvostruke veze,  $\nu(\text{C}=\text{C})$ . U FTIR spektru NiPAAm-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  $1368\text{ cm}^{-1}$ .

U FTIR spektru AAc (slika 2B) postoji apsorpciona traka od valencionih OH vibracija AAc,  $\nu(\text{OH})$ , u oblasti talasnih brojeva  $3600\text{--}2400\text{ cm}^{-1}$ , dok se u istraživanjima drugih autora javlja u oblasti  $3200\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$  (J. Umemura, et al, Infrared spectra and molecular configurations of liquid and crystalline acrylic acids. *Inst. Chem. Res.* **52** (1974) 4:585- 595). Apsorpcione trake jakog intenziteta sa maksimumima na  $3111$  i  $3067\text{ cm}^{-1}$  su rezultat valencionih vibracija vinilne grupe,  $\nu(\text{C}=\text{H})$ . Asimetrične valencione vibracije  $\text{CH}_2$  grupe daju apsorpcionu traku sa maksimumom na  $2939\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{H})$ , dok valencione vibracije metinske grupe (C-H),  $\nu(\text{C}-\text{H})$ , daju apsorpcionu traku na  $2894\text{ cm}^{-1}$ . Apsorpciona traka u oblasti talasnih brojeva  $1710\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$  kod alifatičnih karboksilnih kiselina pripisuju se valencionim vibracijama C=O grupe,  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , i na slici 2B u ovoj oblasti postoji apsorpciona traka jakog intenziteta sa maksimumom na  $1702\text{ cm}^{-1}$ . Apsorpciona trake sa maksimumima na  $1634$  i  $1614\text{ cm}^{-1}$  su posledica vibriranja C=C veze u strukturi AAc.

U FTIR spektru EGDM-a (slika 2C) u oblasti iznad  $3000\text{ cm}^{-1}$  karakteristična je apsorpciona traka slabog intenziteta sa maksimumom na  $3105\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara valencionim vibracijama C-H veze vinilne grupe,  $\nu(\text{C}=\text{H})$ . Apsorpciona traka od valencionih vibracija C-O veze EGDM-a se javlja u oblasti talasnih brojeva od oko  $1150$  do  $1180\text{ cm}^{-1}$ , što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u radu Ilić-Stojanović i saradnika (S.S. Ilić-Stojanović, et al, Synthesis and characterization of thermosensitive hydrogels and the investigation of modified release of ibuprofen. *Hem. Ind.* **67** (2013) 6:901-912). Karakteristične su i apsorpcione trake koje su rezultat valencionih vibracija keto grupe,  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , na  $1723\text{ cm}^{-1}$  i valencionih vibracija dvostruke veze,  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , na  $1636\text{ cm}^{-1}$ .

Na FTIR spektru sintetisanog kopolimera p(NiPAAm/AAc) sa 1,5 mol% EGDM-a (slika 2D) uočava se gubitak i pomeranje pojedinih apsorpcionih traka od NiPAAm-a i AAc. Apsorpciona traka od valencionih OH vibracija,  $\nu(\text{OH})$ , u FTIR spektru kopolimera (slika 2D) je pomerena ka višim talasnim brojevima ( $3700\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ ) u odnosu na istu traku u FTIR spektru AAc (slika 2B). Apsorpciona traka sa maksimumom na  $3077\text{ cm}^{-1}$  potiče od

valencionih vibracija C-H veze vinilne grupe AAc, NiPAAm-a i EGDM-a (Z.H. Farooqi, et al, Synthesis, characterization and fabrication of copper nanoparticles in *N*-isopropylacrylamide based co-polymer microgels for degradation of *p*-nitrophenol. *Mater. Sci. - Poland***33** (2015) 1:185-192). Na FTIR spektru kopolimera p(NiPAAm/AAc) uočeno je postojanje apsorpcione trake na  $1717\text{ cm}^{-1}$  kojaje rezultat vibriranja C=O grupe AAc. Centroid ove trake pomeren je ka višim talasnim brojevima za 15 jedinica u odnosu na istu traku u FTIR spektru AAc (slika 2B). Navedena pomeranja apsorpcionih traka od AAc ukazuju da u građenju vodoničnih veza u kopolimeru p(NiPAAm/AAc) mogu učestvovati OH i C=O grupa. U FTIR spektru kopolimera (slika 2D) postoje apsorpcione trake od NiPAAm-a na  $3295\text{ cm}^{-1}$  i  $1646\text{ cm}^{-1}$  (amidna traka I) sa pomeranjima od 2 i 12 jedinica ka nižim talasnim brojevima u odnosu na iste trake u FTIR spektru NiPAAm-a (slika 2A), respektivno. Rezultati FTIR analize pokazuju da se intramolekulske interakcije po tipu vodonične veze u kopolimeru p(NiPAAm/AAc) verovatno ostvaruju preko OH i C=O grupa AAc i C=O i N-H grupa NiPAAm-a.

Reakcija polimerizacije je izvršena raskidanjem dvostrukih C=C veza, na šta ukazuje gubitak traka od valencionih C=C veza,  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , i deformacionih vibracija u ravni vinilne grupe,  $\delta(\text{C}-\text{H})$ , monomera i umreživača.

### 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  $\text{CuK}\alpha$  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  $3 - 48^\circ$  sa korakom  $0,05^\circ$  i vremenom snimanja,  $\tau = 5\text{ s}$ .

XRD difraktogram praha kopolimera p(NiPAAm/AAc), uzorak 90/10/1,5, prikazan je na slici 3. U XRD difraktogramu sintetisanog kopolimera postoje dva široka difrakciona pika i to sekundarni na  $2\theta = 8,39^\circ$  i fundamentalni na  $2\theta = 19,5^\circ$ . Široki difrakcioni pikovi nemaju jasno definisane refleksije i ukazuju na nizak stepen kristaliničnosti (S. Ilić-Stojanović, et al, The structure characterization of thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-2-hydroxypropyl methacrylate) hydrogel. *Polym. Int.***63** (2014) 6:973-981) tj. kopolimer p(NiPAAm/AAc) poseduje semikristaličnu strukturu. Difraktogram kopolimera

p(NiPAAm/AAc), slika 3, pokazuje veliku sličnost sa difraktogramom homopolimera p(NiPAAm)-a dobijenim u radu drugih autora (S. Ilić-Stojanović, et al, The structure characterization of thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-2-hydroxypropyl methacrylate) hydrogel. *Polym. Int.* **63** (2014) 6:973-981; H. Kasgoz, et al, Removal of copper(II) ions with a thermoresponsive cellulose-g-poly(*N*-isopropyl acrylamide) copolymer. *J. Appl. Polym. Sci.* **130** (2013) 6:4440-4448)

### Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Uzorci hidrogelova u nabubrelom stanju su pre snimanja liofilizovani na uređaju Freeze Dryers Rotational-Vacuum-Concentrator-u (GAMMA 1-16 1SC, Germany). Liofilizovani uzorci su pre sečenja potopljeni u tečni azot, da bi se sprečilo lomljenje i deformacija, a nakon toga je pod vakuumom raspršena legura zlata i paladijuma (85/15) 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 površinske strukture nabubrelog hidrogela p(NiPAAm/AAc), uzorak 95/5/1,5, prikazana je na slici 4. U trodimenzionalnoj strukturi hidrogela p(NiPAAm/AAc) postoje pore različite veličine, što ukazuje da nije ostvaren uniforman proces umreženja u samoj strukturi polimera. Veličina pora sintetisanog kopolimera p(NiPAAm/AAc) u nabubrelom stanju je u opsegu od 100 do 150  $\mu\text{m}$ . Na osnovu veličina pora, sintetisani hidrogelovi (slika 4) se klasifikuju u makroporozne hidrogelove (B.D. Ratner, et al, Synthetic hydrogels for biomedical applications, in *Hydrogels for Medical and Related Applications*, J.D. Andrade (Eds.). *ACS Symposium series, American Chemical Society, Washington DC*, (1976) 1-36; M. Lowman, Smart Pharmaceuticals, [www-gateway.vpr.drexel.edu/files/NewEH/htmls/Lowman.pdf](http://www-gateway.vpr.drexel.edu/files/NewEH/htmls/Lowman.pdf). pristupljeno 25. maja 2016).

### Bubrenje hidrogelova

Hidrogelovi u suvom stanju (kserogelovi) su potopljeni u rastvore različite pH vrednosti (u opsegu od 2,2-9,1) i temperature (u opsegu od 20-80°C) i proces bubrenja je praćen gravimetrijski. Uzorci su vađeni iz rastvora i odstranjen je višak rastvora sa njihove

površine, nakon čega je merena masa u određenim vremenskim periodima do postizanja ravnoteže tj. konstantne mase. Stepenn bubrenja, je računat prema jednačini (4):

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} \quad (4)$$

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

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

Stepenn umreženja ima uticaja na stepenn bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na svim ispitivanim pH vrednostima i temperaturama i sa povećanjem stepena umreženja opada stepenn bubrenja (slika 5-9). Izuzetak su hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc sa 1 i 1,5 mol% EGDM-a (slika 5 i 9). Hidrogel p(NiPAAm/AAc) sa 1 mol% EGDM-a ima manji stepenn bubrenja od hidrogela p(NiPAAm/AAc) sa 1,5 mol% EGDM-a, što ukazuje na nedovoljno umrežavanje tj. relativno malu gustinu umrežavanja u uzorku sa 1 mol% EGDM-a.

Sa povećanjem pH vrednosti okolnog fluida od 2,2 do 9,1 na 25 i 37°C raste ravnotežni stepenn bubrenja ( $\alpha_e$ ) sintetisanih hidrogelova p(NiPAAm/AAc) (slika 5-9). Na većim pH vrednostima dolazi do disocijacije karboksilnih grupa AAc (COO<sup>-</sup>) i između karboksilatnih anjona javlja se elektrostaticko odbijanje, što uzrokuje širenje polimerne mreže i veću apsorpciju okolnog medijuma.

Najveći ravnotežni stepenn bubrenja pokazuje hidrogel p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc i 1,5 mol% EGDM-a u rastvoru pH 9,1 na 25°C,  $\alpha_e = 372,389$  (slika 8A) koji je veći 10 i više puta (Y. Pei, et al, The effect of pH on the LCST of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid). *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* **15** (2004) 5:585-594). Rezultati bubrenja ukazuju da se sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) mogu klasifikovati kao superapsorbujući polimeri (M.J. Zohuriaan-Mehr, et al, Superabsorbent polymer materials: A Review. *Iran. Polym. J.* **17** (2008) 6:451-477; F.L. Buchholz, et al, Modern superabsorbent polymer technology, *Wiley-VCH, New York*, (1998); B.H. Cipriano, et

al, Superabsorbent Hydrogels That Are Robust and Highly Stretchable. *Macromolecules* 47 (2014) 4445-4452).

**Temperaturna osetljivost** tj. opadanje stepena bubrenja sa povećanjem temperature postoji kod kopolimera p(NiPAAm/AAC) sa 5 mol% AAC, slika 9. Intenzivno opadanje stepena bubrenja hidrogelova javlja se od 30 do 60°C, što ih svrstava u negativno temperaturno-osetljive koji imaju donju kritičnu temperaturu rastvora (LCST).

### Postupak liofilizacije i bubrenje hidrogelova nakon liofilizacije

Liofilizacija predstavlja relativno nov postupak sušenja u vakuumu pri vrlo niskim temperaturama koji obezbeđuje nizak sadržaj vlage, očuvanje strukture proizvoda, mikrobiološku stabilnost i očuvanje termički nestabilnih jedinjenja.

Liofilizacija hidrogelova p(NiPAAm/AAC) nabubrelih do stanja ravnoteže je izvršena na uređaju Freeze Dryers Rotational-Vacuum-Concentrator-u (GAMMA 1-16 1SC, Germany). Hidrogelovi su najpre brzo zamrznuti na temperaturi od -40 do -85°C tokom 5 do 60 min, prvenstveno 10 min. Brzo zamrzavanje doprinosi stvaranju manjih kristala, kraćoj solidifikaciji (separaciji leda, tj. vremenu difuzije rastvorene supstance) i sprečavanju rasta mikroorganizama.

U narednoj fazi primarnog sušenja, količina rastvora smanjuje se najpre postupkom sublimacije u opsegu temperature od -30 do 0°C i pritisku od 0,12 do 0,40 hPa tokom 20 do 60 h, prvenstveno 24 do 36 h. Sublimacija predstavlja prelaz zamrznute tečnosti direktno u gasovito stanje bez prolaza kroz tečnu fazu. Postupkom primarnog sušenja sublimira oko 95% vode. Zamrznuti hidrogelovi u nabubrelom stanju postepeno dehidriraju sublimacijom leda pod vakuumom bez bitne promene oblika.

Nakon uklanjanja leda sledi faza sekundarnog sušenja, tj. izotermne desorpcije, sa normalnim vakuum sušenjem, jer hidrogelovi još uvek sadrže kapilarnu, vezanu vodu koja nije zamrznuta. Zagrevanjem hidrogelova na temperature više nego kod faze sublimacije u opsegu od -20 do 0°C tokom 10 do 48 h, poželjno 12 do 14 h i pritisku od 0,44 do 0,56 hPa izdvaja se para iz komore za sušenje pretvaranjem u led. U ovoj fazi sušenja, koja predstavlja spori proces, uklanja se još oko 3% vezane vode, do vrednosti koja ne podržava hemijske reakcije ili rast živih organizama. Liofilizovani hidrogelovi se pakuju pod vakuumom ili pod suvim



inertnim gasom i čuvaju se u frižideru na temperaturi od 4 do 8°C.

Bubrenje hidrogelova nakon liofilizacije je praćeno u rastvoru pH vrednosti 6 na 25°C. Rezultati bubrenja kopolimera p(NiPAAm/AAC) sa 5 mol% AAC u rastvoru pH vrednosti 6 i na 25°C prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2: Rezultati bubrenja liofilizovanih kopolimera p(NiPAAm/AAC) sa 5 mol% AAC u rastvoru pH vrednosti 6 i na 25°C

Vreme (min)	Stepen bubrenja ( $\alpha$ )			
	95/5/1	95/5/1,5	95/5/2	95/5/3
5	72,250	89,456	53,111	5,639
15	103,502	105,435	70,004	7,750
25	116,750	123,956	75,778	8,472
35	121,750	127,435	79,600	8,785
45	127,008	132,913	81,178	10,147
60	140,725	140,956	96,933	11,116
95	157,525	167,696	99,089	11,386
125	163,075	171,797	99,689	12,461
245	172,150	207,725	100,800	12,600
365	180,750	213,596	106,511	13,131
1535	193,900	220,899	119,267	14,908
2870	212,325	226,899	123,800	15,475
4320	215,4	230,536	126,889	15,898

Sintetisani p(NiPAAm/AAC) hidrogelovi dostižu stepen bubrenja 89,46 za vremenski period od 5 min. Preciznije, 1 g uzorka p(NiPAAm/AAC) sa 1,5 mol% EGDM-a nakon 5 min upije skoro 90 g rastvora, a nakon 15 min upije oko 105 g rastvora. Uočava se da kopolimeri p(NiPAAm/AAC) sa 5 mol% AAC nakon liofilizacije znatno brže apsorbuju rastvor, što se može objasniti činjenicom da veća veličina pora omogućava bolju i bržu penetraciju molekula rastvora unutar polimerne matrice.

Prednost dobijenih rezultata u predmetnom pronalasku u odnosu na postojeće stanje

tehnike ogleda se u tome što hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) nakon liofilizacije dostižu visoke stepene bubrenja za kratak vremenski period, a pokazuju i veće ravnotežne stepene bubrenja (slika 10B) u odnosu na ne-liofilizovane uzorke (slika 10A). Povećanje ravnotežnih stepena bubrenja liofilizovanih hidrogelova p(NiPAAm/AAc) se može pripisati postupku liofilizacije, jer se tokom procesa uklanja prusutna vezana voda u njihovoj strukturi. Postupkom liofilizacije zadržava se porozna struktura hidrogelova nabubrelih do stanja ravnoteže, koja omogućava brzo prodiranje fluida za bubrenje kroz već formiranu polimernu mrežu sa maksimalno raširenim porama.

Sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) pored potencijalne primene za isporuku lekovite supstance mogu biti primenjeni kao superapsorbujući materijali, za izradu pelena, gelova za gašenje požara, za prečišćavanje voda kontaminiranim teškim metalima i bojama procesom adsorpcije, itd.

**Prednosti postupka sinteze poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina)** prema prikazanom pronalasku u odnosu na poznate postupke opisane u stanju tehnike, posebno u odnosu na radove Champ-a i saradnika (S. Champ, et al, Concentrating aqueous solutions of water soluble polymers by thermoreversible swelling of poly[(Nisopropylacrylamide)-co-(acrylic acid)] hydrogels. *Macromol.Chem. Phys.***201** (2000) 931-940) i Pei i saradnika (Y. Pei, et al, The effect of pH on the LCST of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid), *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.***15** (2004) 585-594) su sledeći:

- jednostavnost postupka sinteze,
- veći ravnotežni stepen bubrenja hidrogela p(NiPAAm/AAc) i do 10 puta u odnosu na dobijene rezultate prikazane u radu Pei i saradnika.

Prednosti postupka liofilizacije sintetisanih hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) prema prikazanom pronalasku su brža apsorpcija fluida nakon liofilizacije i povećanje ravnotežnog stepena bubrenja u odnosu na ne-liofilizovane hidrogelove.

**Kratak opis slika nacрта:**

Slika 1. HPLC hromatogram metanolnog rastvora dobijenog ekstrakcijom kopolimera p(NiPAAm/AAc) sa UV spektrima reaktanata

Slika 2. FTIR spektri NiPAAm-a (A), AAc (B), EGDM-a (C) i p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc i 1,5 mol% EGDM-a (D)

Slika 3. XRD difraktogram hidrogela p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc i 1,5 mol% EGDM- a

Slika 4. SEM mikrografija liofilizovanih hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc i 1,5 mol% EGDM-a u nabubreloom stanju

Slika 5. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc od vremena u rastvoru pH 2,2 i na temperaturi 25 (A) i 37°C (B)

Slika 6. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc od vremena u rastvoru pH 4,5 i na temperaturi 25 (A) i 37°C (B)

Slika 7. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc od vremena u rastvoru pH 6,8 i na temperaturi 25 (A) i 37°C (B)

Slika 8. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc od vremena u rastvoru pH 9,1 i na temperaturi 25 (A) i 37°C (B)

Slika 9. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc od vremena u opsegu temperature od 20-80°C

Slika 10. Zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc od vremena pre (A) i posle liofilizacije (B) u rastvoru pH 6 i temperaturi 25°C

**PRIMER 1: Sinteza p(NiPAAm/AAc)**

Odmereno je 550 mg *N*-izopropilakrilamida, formule I, 18 mg akrilne kiseline, formule II, 20 mg 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) i 0,5 mol% umreživača etilenglikoldimetakrilata

rastvaranjem u acetonu. Reakciona smeša je nakon homogenizacije ubrizgana u staklenu cev, zatopljenju sa jedne strane. Temperaturni režim polimerizacije je bio: 10 min na temperaturi od 50°C, zatim 80 min na temperaturi od 78°C i 50 min na temperaturi od 85°C. Dobijeni hidrogel p(NiPAAm/AAc), potencijalne strukturne formule III, izdvojen je i sečen u vidu tankih diskova debljine 2 mm, preliven 99% metanolom tokom 3 dana radi uklanjanja neproreagovanih reaktanata. Dekantovanjem su izdvojeni rastvori, koji su HPLC metodom analizirani na zaostale količine rezidualnih reaktanata.

#### **PRIMER 2: Sinteza p(NiPAAm/AAc)**

Odmereno je 510 mg *N*-izopropilakrilamida, formule I, 32 mg akrilne kiseline, formule II, 15 mg benzoil-peroksida i 1 mol% umreživača etilenglikoldimetakrilata u prisustvu dioksana kao rastvarača. Reakciona smeša je nakon homogenizacije ubrizgana u staklenu cev, zatopljenju sa jedne strane, a potom je cev zatopljena i sa druge strane. Stavljena je u peć za sušenje 40 min na temperaturi od 65°C, 40 min na temperaturi od 75°C i 15 min na temperaturi od 90 °C. Nakon hlađenja je dobijeni hidrogel p(NiPAAm/AAc), potencijalne strukturne formule III, izdvojen iz staklene cevi i sečen u vidu tankih diskova debljine 1 mm, a zatim preliven 99% metanolom. Metanolni rastvor analiziran je na zaostale količine rezidualnih reaktanata metodom HPLC hromatografije.

#### **PRIMER 3: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 2,2 i temperaturi 25°C**

Na slici 5A prikazana je zavisnost stepena bubrenja,  $\alpha$ , hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc, od vremena na temperaturi od 25°C i pH 2,2. Najveći ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova dostiže hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a,  $\alpha_e=10,712$ , dok najmanji hidrogel p(NiPAAm/AAc) sa 3 mol% EGDM-a,  $\alpha_e=7,802$ . Molski sadržaj umreživača ima uticaja na ravnotežni stepen bubrenja i sa povećanjem količine umreživača opada stepen bubrenja. Hidrogel sa 1 mol % EGDM-a ima manji ravnotežni stepen bubrenja u odnosu na hidrogel p(NiPAAm/AAc) sa 1,5 mol% EGDM-a (slika 5A), što je posledica relativno male gustine umrežavanja u hidrogelu sa 1 mol% EGDM-a.

**PRIMER 4: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 2,2 i temperaturi 37°C**

Na slici 5B prikazana je zavisnost stepena bubrenja od vremena za seriju hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc i različitim sadržajem umreživača na temperaturi od 37°C i pH 2,2. Hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) pokazuju znatno manje stepena bubrenja na 37°C (slika 5B) u odnosu na stepene bubrenja na 25°C pri istoj pH vrednosti (slika 5A), što ukazuje na negativnu temperaturnu osetljivost sintetisanih hidrogelova. Stepem umreženja ima uticaja na karakteristike bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc), tako da najveći ravnotežni stepen bubrenja ima hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a,  $\alpha_e=3,762$ . Ravnotežno bubrenje hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) dostižu za vremenski period od 270 min.

**PRIMER 5: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 4,5 i temperaturi 25°C**

Promena stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc sa vremenom data je na slici 6A u rastvoru pH 4,5 i temperaturi 25°C. Ravnotežni stepeni bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) kreću se u opsegu od 14,850-19,053 (slika 6A). Sa slike 6A se uočava da stepen bubrenja raste sa povećanjem količine umreživača, što se objašnjava činjenicom da dolazi do stvaranja gušće mreže u hidrogelu kada se poveća količina umreživača EGDM-a. Polimerni lanci su u tom slučaju više fiksirani i kao posledica toga pojavljuje se manja sposobnost apsorpcije vode.

**PRIMER 6: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 4,5 i temperaturi 37°C**

Promena stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc sa vremenom data je na slici 6B u rastvoru pH 4,5 i temperaturi 37°C. Sa slike 6 se uočava opadanje stepena bubrenja sa povećanjem temperature od 25 do 37°C u rastvoru pH 4,5, što još jednom ukazuje da sintetisane hidrogelove p(NiPAAm/AAc) možemo klasifikovati kao negativno temperaturno osetljive. Najveći ravnotežni stepen bubrenja na 37°C ima sintetisani hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a,  $\alpha_e=15,870$ , dok najmanji sintetisani hidrogel sa 3 mol% EGDM-a,  $\alpha_e=8,281$ .

**PRIMER 7: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 6,8 i temperaturi 25°C**

Rezultati bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc tokom vremena u rastvoru pH 6,8 i temperaturi 25°C prikazani su na slici 7A. Sintetisani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) dostižu visoke stepene bubrenja za vremenski period od 70 min, u opsegu od 13,991-159,069 (slika 7A). Komparativnom analizom dobijenih grafika na slici 6A i 7A uočava se da promena pH rastvora sa 4,5 na 6,8 značajno povećava ravnotežne stepene bubrenja (čak do 10 puta). Sintetisane hidrogelove p(NiPAAm/AAc) karakterišemo kao pH- osetljive, a razlog tome je prisutnost AAc u strukturi kopolimera. Pri porastu pH rastvora povećava se broj jonizovanih karboksilnih grupa ( $\text{COO}^-$ ) u odnosu na nejonizovane ( $\text{COOH}$ ), što uzrokuje elektrostatičko odbijanje između jonizovanih grupa i širenje polimerne mreže.

**PRIMER 8: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 6,8 i temperaturi 37°C**

Rezultati bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc tokom vremena u rastvoru pH 6,8 i temperaturi 37°C prikazani su na slici 7B. Ravnotežni stepeni bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) su manji na temperaturi 37°C (8,516-30,988) u odnosu na ravnotežne stepene bubrenja (55,000-259,851), slika 7. Proces bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) zavisi od količine umreživača EGDM-a kao i na svim ispitivanim temperaturama i pH vrednostima rastvora.

**PRIMER 9: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 9,1 i temperaturi 25°C**

Na slici 8A prikazana je zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc, od vremena na temperaturi od 25°C i pH 9,1. Najveći ravnotežni stepeni bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) dobijeni su u rastvoru pH 9,1 i na temperaturi od 25°C:  $\alpha_c = 372,389$  za hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a,  $\alpha_c = 234,897$  za hidrogel sa 2 mol% EGDM-a i  $\alpha_c = 88,399$  za hidrogel sa 3 mol% EGDM-a. Navedeni rezultati ukazuju da pH vrednost okolnog fluida ima značajan uticaj na karakteristike bubrenja serije hidrogelova

p(NiPAAm/AAc). Na osnovu visokih kapaciteta apsorpcije hidrogelove p(NiPAAm/AAc) možemo klasifikovati kao superapsorbujuće polimere.

#### **PRIMER 10: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) na pH 9,1 i temperaturi 37°C**

Na slici 8B prikazana je zavisnost stepena bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 10 mol% AAc, od vremena na temperaturi od 37°C i pH 9,1. Najveći ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova dostiže hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a,  $\alpha_e = 214,125$ , dok najmanji hidrogel p(NiPAAm/AAc) sa 3 mol% EGDM-a,  $\alpha_e = 16,409$ . U poređnom analizom grafika na slici 8A i 8B zaključuje se da povećanje temperature dovodi do smanjenje stepena bubrenja.

Na karakteristike bubrenja hidrogelova p(NiPAAm/AAc) značajniji uticaj ima pH u odnosu na temperaturu okolnog fluida.

#### **PRIMER 11: Ispitivanje temperaturne osetljivosti hidrogelova p(NiPAAm/AAc) u opsegu temperature od 20 do 80°C**

Rezultati ispitivanja temperaturne osetljivosti hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc u opsegu temperature od 20 do 80°C prikazani su na slici 9. Stepen bubrenja p(NiPAAm/AAc) opada sa povećanjem temperature, pri čemu se najintenzivnije opadanje stepena bubrenja javlja u opsegu temperature od 30 do 60°C. Najizraženiji fazni prelaz pokazao je hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a, ravnotežni stepen bubrenja na 20°C iznosi 216,36, dok na 80°C iznosi 3,401 (slika 9).

Na osnovu dobijenih rezultata sintetisane hidrogelove možemo okarakterisati i kao polimerne materijale osetljive na promene pH i temperature sa donjom kritičnom temperaturom rastvorom (LCST). Hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) mogu da apsorbuju izvesne supstance rastvorene u vodi na nižoj temperaturi i većoj pH vrednosti, a sa povećanjem temperature i smanjenjem pH vrednosti bi izbacivali tečnost sa rastvorenim supstancama, tako da se mogu koristiti za dizajniranje sistema za kontrolisanu isporuku lekovitih supstanci.

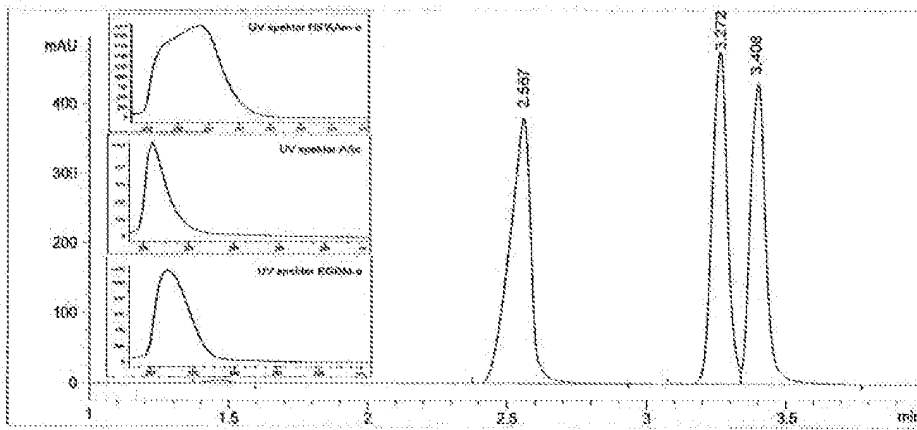
**PRIMER 12: Bubrenje hidrogelova p(NiPAAm/AAc) pre i posle liofilizacije na pH 6 i temperaturi 25°C**

Na slici 10 prikazana je promena stepena bubrenja serije hidrogelova p(NiPAAm/AAc) sa 5 mol% AAc, pre i posle postupka liofilizacije na pH 6 i 25°C. Liofilizovani hidrogelovi p(NiPAAm/AAc) brže apsorbuju rastvor i dostižu veće kapacitete apsorpcije u poređenju sa ne-liofilizovanim uzorcima (slika 10). Veća veličina pora liofilizovanih uzoraka omogućava bolju penetraciju molekula rastvora unutar polimerne matrice, tako da za vremenski period od 5 min sintetisani hidrogel sa 1,5 mol% EGDM-a ima stepen bubrenja od 89,456 (tabela 2). Veći ravnotežni kapaciteti apsorpcije okolne tečnosti liofilizovanih uzoraka hidrogelova p(NiPAAm/AAc) su posledica uklanjanja zaostale vode u hidrogelovima procesom liofilizacije.

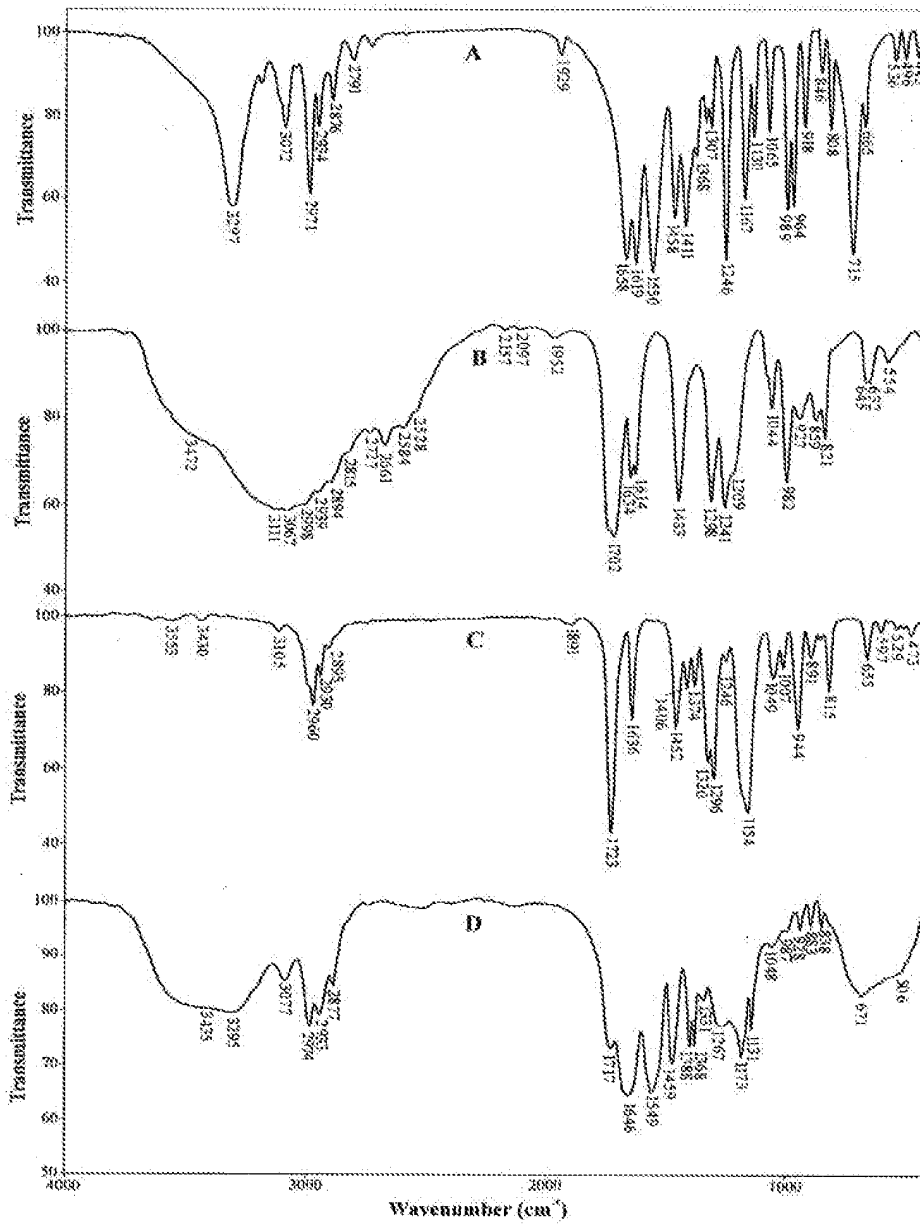


## PATENTNI ZAHTEVI

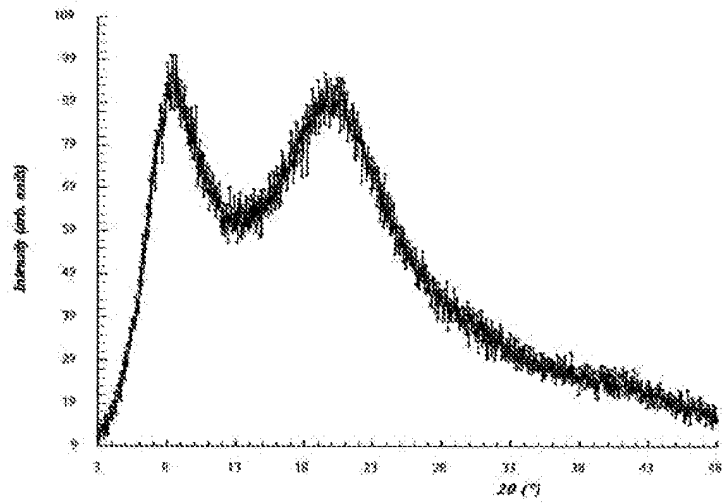
1. Postupak liofilizacije hidrogelova poli(*N*-izopropilakrilamida-*ko*-akrilna kiselina) dobijenih reakcijom monomera *N*-izopropilakrilamida sa 5 mol% akrilne kiseline u prisustvu 1,5 mol% umreživača etilenglikoldimetakrilata, inicijatora benzoil-peroksida ili 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) i rastvarača 1,4-dioksana ili acetona, metodom termičke polimerizacije sa temperaturnim režimom od 10 do 60 min na temperaturi od 20 do 75°C, zatim 20 do 150 min na temperaturi u opsegu od 75 do 85°C i na kraju 10 do 60 min na temperaturi od 85 do 100°C, dobijeni hidrogelovi preliveni su rastvorom 99% metanola tokom 3 dana, nakon dekantovanja rastvorima metanol/destilovana voda u zapreminskom odnosu 75/25, 50/50, 25/75 i 0/100%, po jedan dan, **naznačen time** što se hidrogelovi najpre brzo zamrzavaju na temperaturi od -40 do -85°C, tokom 5 do 60 min, prvenstveno 10 min, zatim se podvrgavaju sublimaciji pri temperaturi od -30 do 0°C i pritisku od 0,12 do 0,40 hPa tokom 20 do 60 h, prvenstveno 24 do 36 h, a zatim normalnom vakuum sušenju u opsegu od -20 do 0°C i pritisku od 0,44 do 0,56 hPa tokom 10 do 48 h, prvenstveno 12 do 14 h.
2. Poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) sa 5 mol% akrilne kiseline i 1,5 mol% etilenglikoldimetakrilata dobijen prema postupku navedenom u zahtevu 1, **naznačen time** što ima veličinu pora u nabubrelom stanju od 100 do 150 μm.
3. Poli(*N*-izopropilakrilamid-*ko*-akrilna kiselina) prema zahtevu 2, **naznačen time** što dostiže stepen bubrenja,  $\alpha$ , do 89,46 za vreme bubrenja do 5 minuta na temperaturi od 25°C u rastvoru čija je pH vrednost 6.



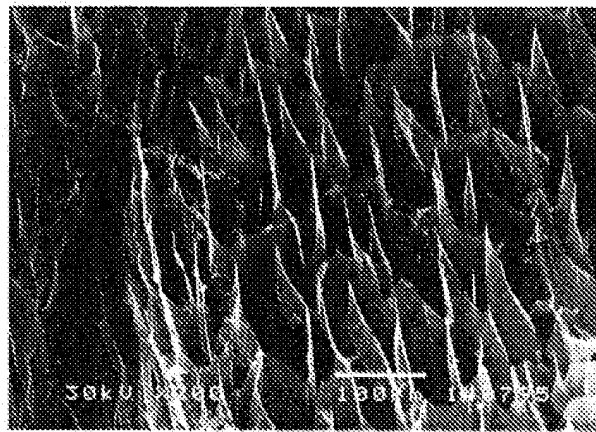
Slika 1.



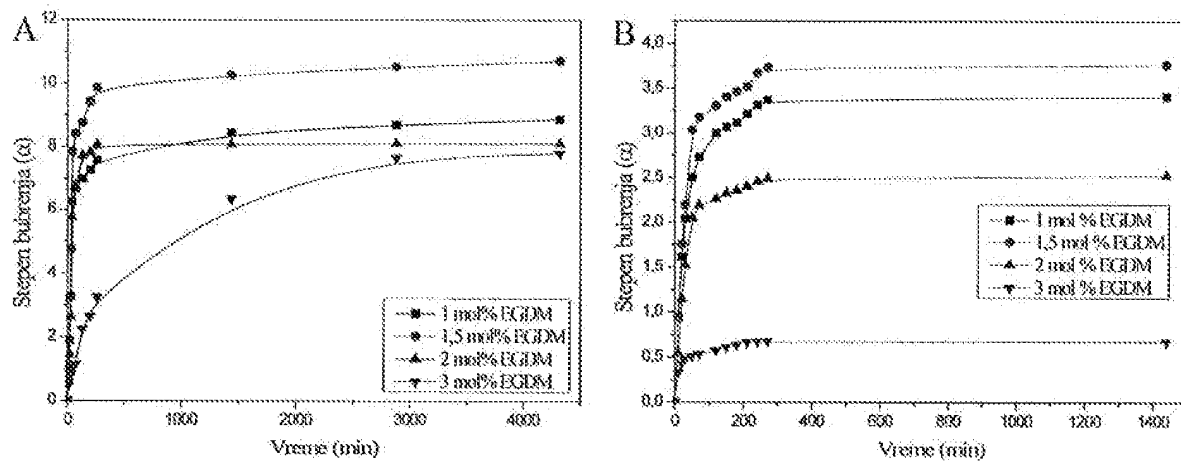
Slika 2.



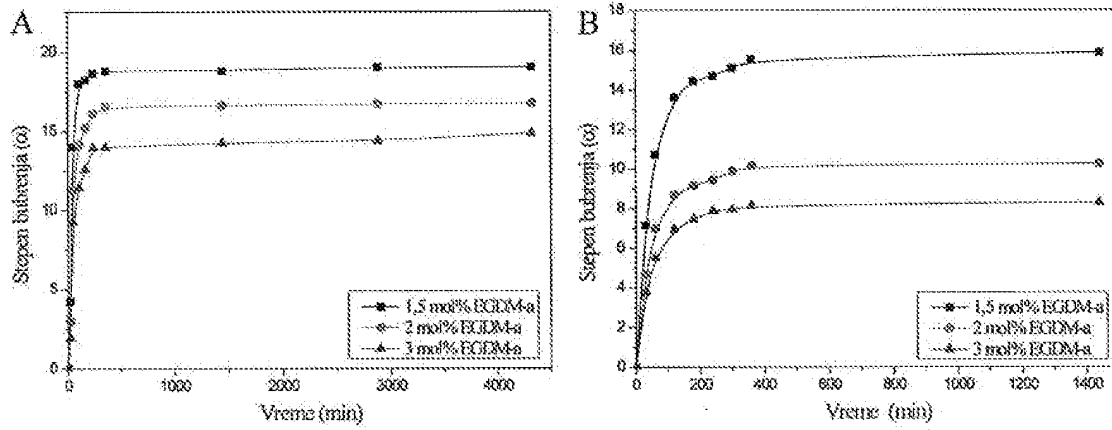
Slika 3.



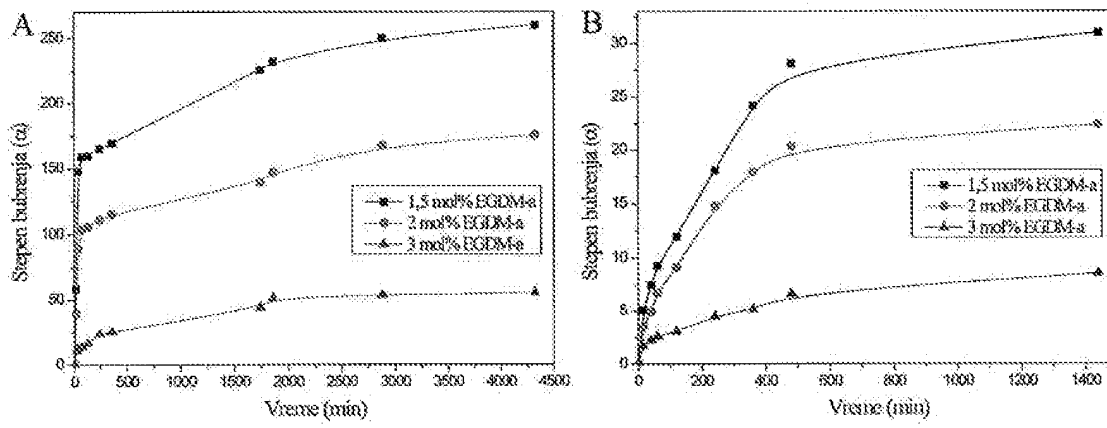
Slika 4.



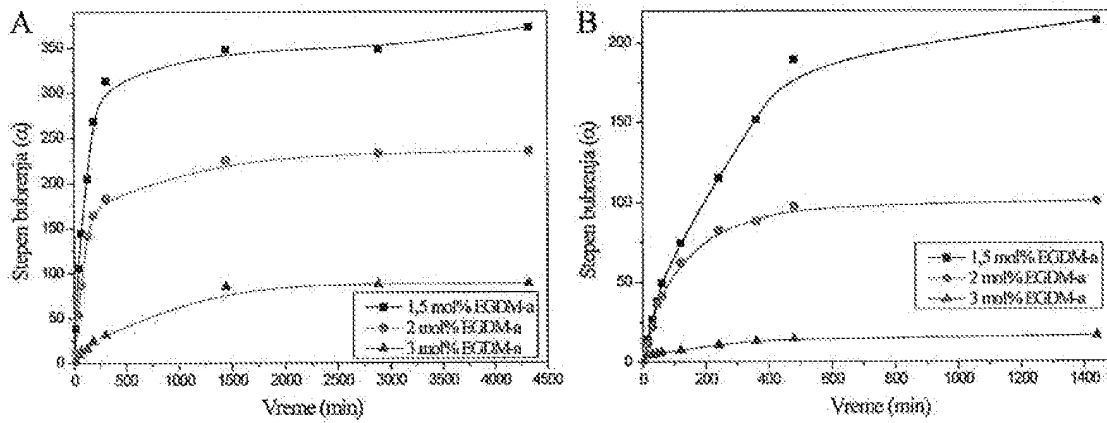
Slika 5.



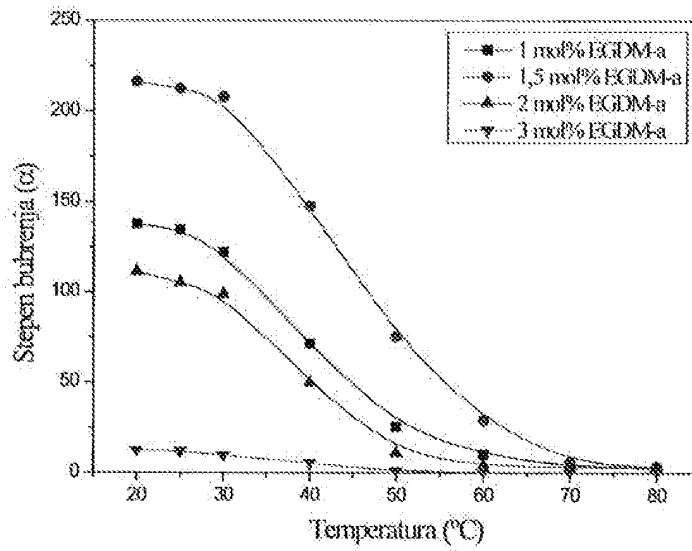
Slika 6.



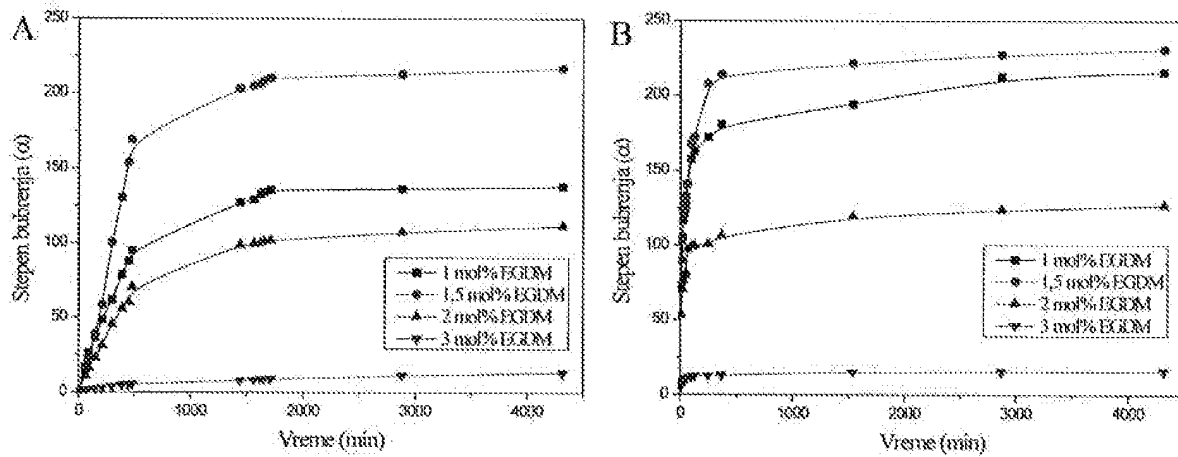
Slika 7.



Slika 8.



Slika 9.



Slika 10.