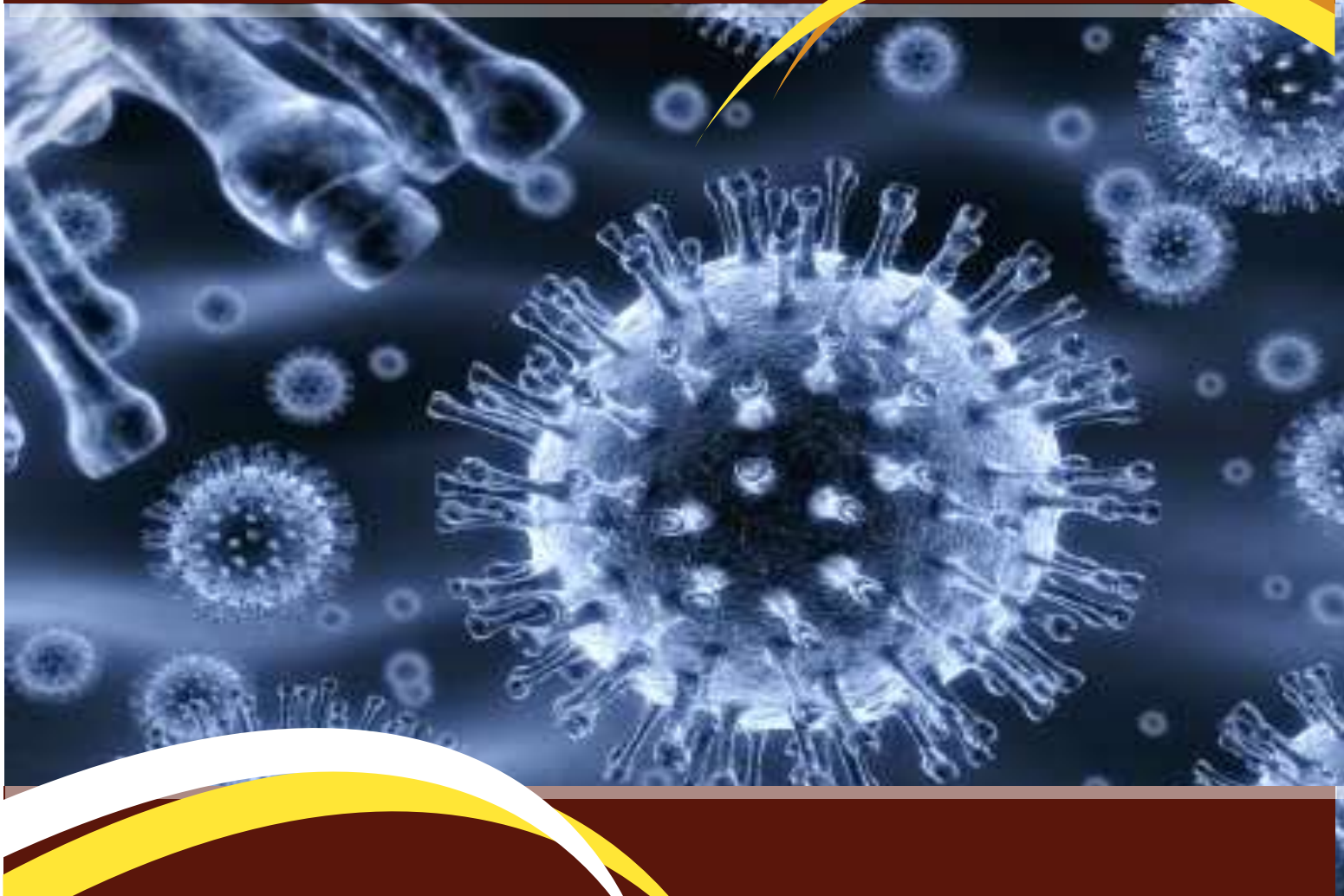


BIOMEDICINSKO INŽENJERSTVO



HIDROGELOVI NANOGELOVI



1. HIDROGELOVI

Hidrogelovi su slabo umreženi hidrofilni polimeri sposobni da apsorbiraju velike količine vode ili bioloških fluida, pri čemu bubre, ali se ne rastvaraju.

Hidrogelovi se mogu dobiti iz prirodnih polimera ili se mogu sintetizovati iz hidrofilnih monomera. Iako hidrogelovi dobijeni iz prirodnih polimera poseduju niz korisnih svojstava, kao što su biokompatibilnost i biodegradabilnost, nemaju dobra mehanička svojstva i mogu da sadrže patogene ili da izazovu imuno/inflamatoran odgovor. Sintetički hidrogelovi, s druge strane, imaju dobro definisanu strukturu koja se može modifikovati kako bi se postigla degradabilnost, funkcionalnost i bioaktivna svojstva. U tabeli 1.1 dati su prirodni polimeri kao i monomeri koji se najčešće koriste za sintezu hidrogelova.

Tabela 1. Prirodni polimeri i monomeri koji se najčešće koriste za dobijanje hidrogelova.

<i>Prirodni polimer</i>	<i>Monomer</i>
Hitozan	Hidroksietil metakrilat (HEMA)
Alginat	N-(2-hidroksipropil) metakrilat (HPMA)
Fibrin	N-vinil-2-pirolidon (NVP)
Kolagen	N-izopropil akrilamid (NiPAAm)
Želatin	Vinil acetat (VAc)
Hijaluronska kiselina	Akrilna kiselina (AA)
Dekstran	Metakrilna kiselina (MAA)

Poznavanje strukture hidrogelova je izuzetno značajno za razumevanje njihovog ponašanja u različitim uslovima, a samim tim i za njihovu primenu. Odgovarajućim izborom monomernih komponenti za sintezu hidrogelova, moguće je uticati na hemijsku strukturu hidrogelova i samim tim na njihova svojstva. Prirodni polimeri, uglavnom polisaharidi, su biodegradabilni, jeftini, prilično otporni na smicanje i lako se dobijaju iz obnovljivih prirodnih izvora. U novije vreme veliku pažnju su privukli modifikovani prirodni polimeri koji se koriste za dobijanje novih biomaterijala sa specifičnim svojstvima.

1.1 Klasifikacija hidrogelova

Zbog svoje prirode hidrogelove je moguće klasifikovati na različite načine. Jedna od osnovnih podela je na tri grupe: hidrogelove izgrađene od prirodnih polimera, one koji su izgrađeni od sintetskih polimera i hidrogelove koji su kombinacija ova dva tipa mreža. Takođe je važna podela na konvencionalne hidrogelove i hidrogelove osetljive na spoljne uticaje koji, za razliku od konvencionalnih,

pokazuju značajne promene stepena bubrenja kao odgovor na male promene pH vrednosti rastvora, temperature, jonske jačine, električnog polja, i dr. Podela hidrogelova na osnovu monomera koji ulaze u njihov sastav je na homopolimerne i kopolimerne hidrogelove. Na osnovu prirode umreženja dele se na hemijski i fizički umrežene. Hidrogelovi se mogu razlikovati i prema strukturi mreže, koje mogu biti jednostavne mreže, semi-interpenetrirajuće (semi-IPM), interpenetrirajuće i hibridne polimerne mreže. Semi-IPM predstavljaju kombinaciju polimerne mreže i neumreženog polimera međusobno ispreplitanih lanaca, interpenetrirajuće polimerne mreže (IPM) su kombinacija dva umrežena polimera međusobno ispreplitan, a hibridne polimerne mreže (HPM) nastaju umrežavanjem strukturnih jedinica dva različita polimerna lanca. Važna podela je i na neutralne i jonske, pri čemu jonski hidrogelovi mogu biti anjonski, katjonski ili amfifilni. Postoji i podela hidrogelova na osnovu veličine pora na: superporozne (pore $> 100 \mu\text{m}$), makroporozne (pore od $0,1 - 1 \mu\text{m}$), mikroporozne (pore od $0,1$ do $0,01 \mu\text{m}$) i neporozne hidrogelove (pore između $0,001$ i $0,01 \mu\text{m}$), kao i niz drugih podela.

1.2. Metode dobijanja hidrogelova

Kao što je već spomenuto, hidrogelovi se dele prema načinu dobijanja na hemijski i fizički umrežene sisteme. Obe ove metode su veoma zastupljene u procesima sinteze hidrogelova. Osnovna odlika hemijski umreženih hidrogelova je da pri njihovoj sintezi dolazi do formiranja kovalentnih mesta umreženja između polimernih lanaca. U fizički umreženim hidrogelovima proces formiranja umreženja se dešava usled uspostavljanja fizičkih interakcija koje se javljaju između različitih polimernih lanaca.

1.2.1. Hemijski umreženi hidrogelovi

Reakcije koje dovode do nastajanja hemijski umreženih hidrogelova su: reakcije radikalne polimerizacije, polikondenzacije i reakcije sa enzimima.

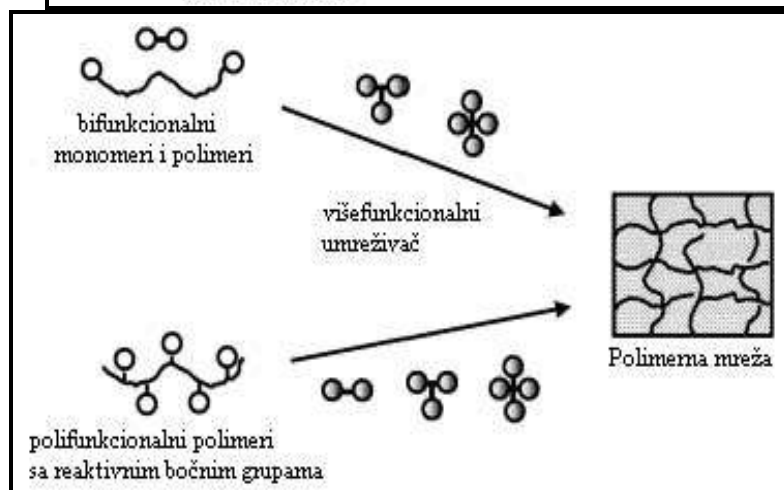
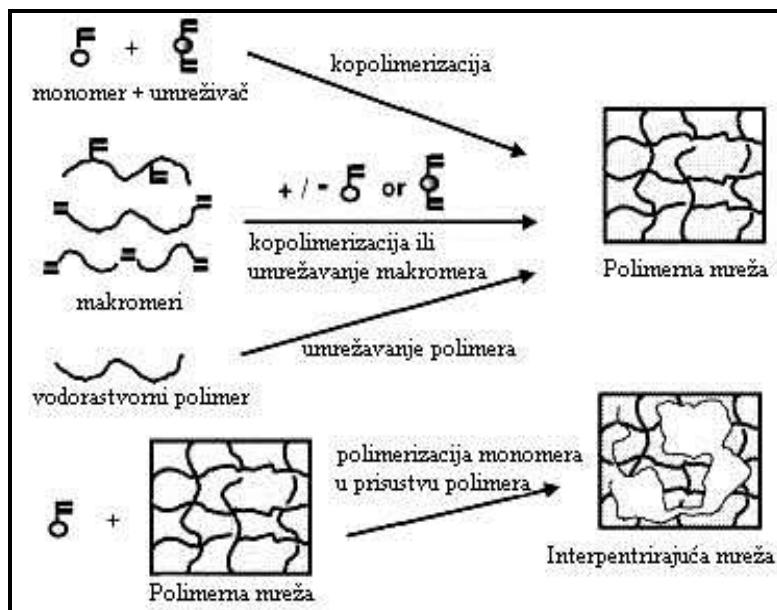
1.2.1.1. Umrežavanje radikalnom polimerizacijom

Pri radikalnoj polimerizaciji u rastvoru monomeri i umreživač se rastvaraju u odgovarajućem rastvaraču, a polimerizacija može da se inicira termijski, zračenjem (UV, γ -zračenje) ili upotrebom odgovarajućeg inicijatora čiji izbor zavisi od sistema koji se koristi. Osnovna prednost u odnosu na polimerizacije u masi je u tome što se pomoću rastvarača lakše kontroliše temperatura. Nakon sinteze potrebno je odstraniti neproreagovale materije, monomere, oligomere, umreživač i druge nečistoće.

Prilikom sinteze hidrogelova u vodi važno je obratiti pažnju na količinu upotrebene vode. Ako je upotrebljena veća količina vode nego što hidrogel nabubreo do ravnoteže može da primi tokom sinteze može doći do razdvajanja faza. Pri tome nastaje heterogena polimerna

mreža koja se sastoji od jako umreženih delova, mikrogela. Ovaj fenomen je poznat kao 'mikrosinerezis'. Primer je polimerizacija 2-hidroksietilmetakrilata (HEMA). Ukoliko je količina vode veća od 43 mas %, dobija se zamućen, neproziran PHEMA gel sa velikim porama koje mogu da služe kao mikrozervoari proteina ili peptida.

Za dobijanje hidrogelova u obliku sfera, mikro ili nano dimenzija, najčešće se koristi polimerizacija u suspenziji ili emulziji. Sfere hidrogela lako mogu da se izdvoje i prečiste od neproreagovalih materija. Veličina, oblik i raspodela veličina sfera zavise od upotrebljenog suspenzionog agensa, tipa mešalice i brzine mešanja.



Slika 1.1. Sinteza hidrogelova: (a) polimerizacijom preko slobodnih radikala -poli(2-hidroksietilmetakrilat), poli(etilen glikol); (b) polikondenzacijom-kolagen, poli(vinil alkohol), polisaharidi.

Sinteza hidrogelova se može izvesti i homopolimerizacijom prethodno sintetisanog višefunkcionalnog makromera ili kopolimerizacijom monomera i višefunkcionalnog makromera. Poslednjih godina je sve veća primena zračenja za umrežavanje vodenih rastvora hidrofилnih monomera ili polimera (radijaciona

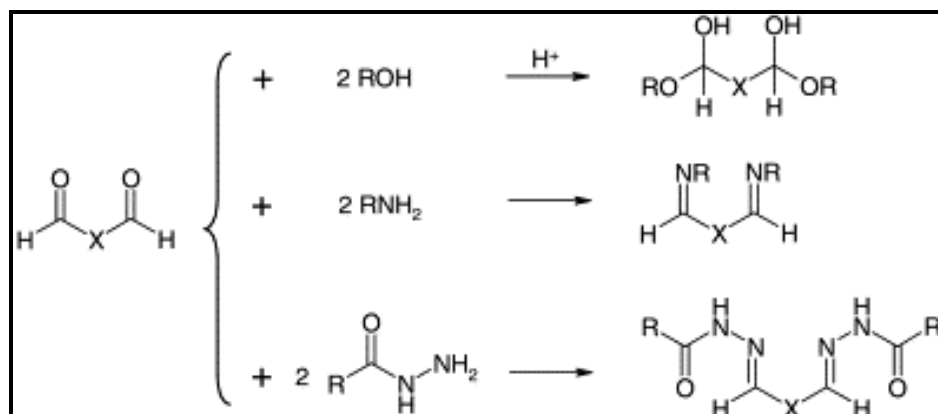
polimerizacija). Ovaj vid umrežavanja ima nekih prednosti u odnosu na klasičan način umrežavanja jer nije potrebno prisustvo inicijatora i umreživača, a može se primeniti na sve vinilne monomere, pri čemu se reakcije polimerizacije i umrežavanja mogu odvijati na sobnoj ili nižoj temperaturi, a stepen umreženja hidrogelova zavisi od doze zračenja.

1.2.1.2 Umrežavanje polikondenzacijom (reakcija komplementarnih grupa)

Vodorastvorni polimeri svoju rastvorljivost duguju prisustvu funkcionalnih grupa (uglavnom OH, COOH, NH₂) koje se mogu koristiti za dobijanje hidrogelova. Umrežavanje između polimernih lanaca se može izvesti reakcijom između funkcionalnih grupa sa komplementarnom reaktivnošću, kao što su reakcije amin/karboksilna kiselina, izocijanat/OH-NH₂ ili formiranje Šifove baze.

Umrežavanje aldehidima

Vodorastvorni polimeri sa hidroksilnim grupama, npr. poli(vinil alkohol), se mogu umrežiti sa glutar aldehidom (slika 1.3). Da bi došlo do umrežavanja neophodno je obezbediti visoku temperaturu i kiselu sredinu. S druge strane, polimeri koji sadrže amino grupu mogu se umrežiti sa istim reagensom pod blagim uslovima pri čemu se formiraju tzv. Šifove baze (slika 1.3). Ovaj način umrežavanja je posebno ispitivan za dobijanje umreženih proteina (npr. albumin i želatin) i polisaharida koji sadrže amino grupe. Ovakvi gelovi se primenjuju za brže zarastanje rana jer se u njih inkorporira epidermalni faktor rasta.



Slika 1.2. Umrežavanje polimera koji sadrže alkoholnu, amino ili hidrazidnu grupu posredstvom aldehida. (R predstavlja polimerne lance, X razne grupe npr. (CH₂)₃ u slučaju glutar aldehida.)

Umrežavanje reakcijama adicije

Vodorastvorni polimeri mogu se umrežiti upotrebom višefunkcionalnih agenasa za umrežavanje koji reaguju sa funkcionalnim grupama vodorastvornih polimera u reakciji adicije. Svojstva mreže se mogu lako podešavati variranjem koncentracije rastvorenog polimera i količine umreživača. Reakcije umrežavanja se bolje izvode u organskim rastvaračima, zato što pri izvođenju reakcija u vodi može doći do reakcije vode i umreživača. Neprereagovali umreživači moraju da se uklone iz hidrogelova ekstrahovanjem pošto su uglavnom otrovni.

1.2.2 Fizički umreženi hidrogelovi

Poslednjih godina raste interes za fizički umreženim hidrogelovima jer se na taj način izbegava upotreba umreživača koji mogu da utiču na svojstva supstance ugrađene u gel (npr. proteine). To su često i otrovne komponente koje se moraju ekstrahovati, odnosno ukloniti iz hidrogela pre upotrebe. Istraživane su različite metode dobijanja fizički umreženih hidrogelova od kojih su najvažnije: umrežavanje jonskim interakcijama, hidrogelovi amfifilnih blok i kalemljenih kopolimera, hidrofobizovani polisaharidi, umrežavanje vodoničnim vezama i hidrogelovi dobijeni kristalizacijom dela polimernog lanca.

1.3. Svojstva hidrogelova

1.3.1. Bubrenje hidrogelova

Kada suv uzorak počne da bubri, molekuli vode prvo hidratišu najpolarnije hidrofilne grupe. Voda koja na ovaj način dospe u gel naziva se „primarno vezana voda”. Usled toga dolazi do širenja polimernih lanaca, pri čemu i hidrofobne grupe dolaze u kontakt sa molekulima vode. Voda koja se vezuje usled hidrofobnih interakcija naziva se „sekundarno vezana voda”. Primarna i sekundarna voda zajedno čine „vezanu vodu”. Posle interakcija grupa koje se nalaze duž osnovnog lanca sa molekulima vode (tzv. interakcije bliskog dejstva-short-range interactions), polimerna mreža apsorbuje vodu do dostizanja ravnotežnog stepena bubrenja. Ova voda se naziva „slobodna voda”, i deli se na „srednju vodu”, koja se nalazi u zoni između vezane vode i „prave” slobodne vode, koja ispunjava centar najvećih pora i šupljina. Količine slobodne vode, slabo vezane vode i vezane vode variraju kroz unutrašnju površinu hidrogela. Pomoću DSC i NMR analize moguće je odrediti slobodnu vodu, a vezana voda se dobija iz razlike ukupne i slobodne vode.

Pogonska sila koja izaziva bubrenje, odnosno istezanje i širenje polimernih lanaca, a samim tim i povećanje zapremine gela, je sila osmotskog pritiska. Pošto je narušeno stanje polimera sa najmanjim sadržajem energije, javlja se sila otpora elastičnom širenju

lanaca. Izjednačavanjem ovih dveju sila uspostavlja se ravnotežno stanje. Na povećanje sile otpora izduženju lanaca utiče i gustina poprečnih veza, odnosno stepen umreženja. Povećanje broja poprečnih veza, odnosno stepena umreženja, smanjuje fleksibilnost polimernih lanaca u mreži povećavajući otpor sklopčanih lanaca ka izduživanju, što dovodi do smanjenja stepena bubrenja.

Stepen bubrenja može da se definiše kao maseni ili kao zapreminski. Maseni stepen bubrenja se definiše kao odnos mase nabubrelog gela prema masi suvog uzorka. Zapreminski stepen bubrenja definiše se kao odnos zapremine apsorbovanog rastvora prema zapremini suvog uzorka.

1.3.2. Faktori koji utiču na bubrenje hidrogelova

Na bubrenje hidrogelova utiče hemijska struktura, stepen umreženja, fleksibilnost polimernih lanaca, koncentracija grupa u polimernoj mreži koje mogu da jonizuju, stepen jonizacije tih grupa, interakcije sa vodom.

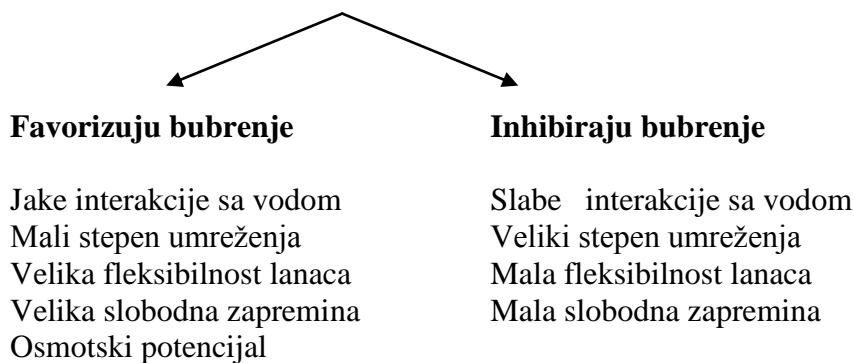
Stepen umreženja je jedan od najvažnijih faktora koji utiče na bubrenje hidrogelova. Teorijski stepen umreženja je odnos molova umreživača i molova osnovne jedinice polimernog lanca. Što je veći stepen umreženja veća je količina umreživača ugrađenog u hidrogel koji sprečava pokretljivost polimernih lanaca i smanjuje stepen bubrenja. Jako umreženi hidrogelovi manje bubre u poređenju sa hidrogelovima istog sastava, ali sa manjom količinom umreživača. Regulisanjem stepena umreženja utiče se i na unutrašnju slobodnu zapreminu koju mogu ispuniti molekuli vode. Velika unutrašnja slobodna zapremina omogućava da se veća količina vode smesti unutar gela što favorizuje bubrenje. S druge strane, mala slobodna zapremina smanjuje stepen bubrenja.

Hemijska struktura polimera takođe utiče na stepen bubrenja hidrogelova. Hidrogelovi koji sadrže hidrofilne grupe više bubre u odnosu na hidrogelove sa hidrofobnim grupama. Hidrofobne grupe se kontrahuju u prisustvu vode, a kao rezultat hidrogel će manje bubriti u odnosu na gel sa hidrofilnim grupama.

Na bubrenje hidrogelova sa jonskim grupama utiče sadržaj jonskih grupa i stepen njihove jonizacije koji zavisi od pK vrednosti. Što je veći sadržaj jonskih grupa u hidrogelu, veća je hidrofilnost mreže, a to doprinosi bržem bubrenju i dostizanju većeg ravnotežnog stepena bubrenja. Kako je ranije već pomenuto, bubrenje jonskih hidrogelova zavisi od pH vrednosti sredine. Stepen bubrenja jonskih hidrogelova se može promeniti dodatkom neutralnog monomera u polimernu mrežu ili promenom stepena umreženja. Na bubrenje mogu da utiču i jonske interakcije, zatim priroda suprotno naelektrisanog jona, elektrostatičko privlačenje i dr. Što je valenca jona suprotnog naelektrisanja veća, izraženije je privlačenje od strane gela.

Fleksibilnost polimernih lanaca utiče na bubrenje u tom smislu što velika fleksibilnost favorizuje bubrenje, dok mala fleksibilnost smanjuje bubrenje. Ukoliko su interakcije polimernih lanaca sa molekulima vode jače, utoliko je bubrenje izraženije i obrnuto.

Faktori koji utiču na bubrenje hidrogelova



U zavisnosti od komponenata koje ulaze u sastav hidrogela, na bubrenje se može uticati promenom pH vrednosti sredine, temperature, jonske jačine, elektromagnetnim zračenjem i dr. Posebno je značajan uticaj temperature i pH vrednosti sredine jer su ovo faktori koji se najčešće menjaju u fiziološkim, biološkim i hemijskim sistemima. Zbog ovakvih svojstava hidrogelovi su dobili naziv „inteligentni materijali”.

1.4. Struktura mreže

Struktura hidrogelova je glavni faktor koji uslovljava njihova svojstva i primenu. Najvažniji parametri za karakterisanje mreže su: a) zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju ($v_{2,s}$)-indirektna mera količine fluida koju je gel apsorbovao; b) molska masa polimernih lanaca između dve tačke umreženja (M_c)-mera stepena umreženja; c) veličina pora (ξ)-predstavlja prostor između polimernih lanaca u koje difunduju molekuli tečnosti. Molska masa između dve tačke umreženja, M_c , i veličina pora, ξ , su srednje vrednosti, koje se mogu odrediti računskim putem.

1.4.1. Proračun veličine pora

Prema veličini pora hidrogelovi se mogu klasifikovati na: 1) makroporozne (veličina pora se kreće od 0,1 do 1 μm); 2) mikroporozne (veličina pora se kreće od 0,01 do 0,1 μm) i 3) neporozne (veličina pora se kreće od 0,001 do 0,01 μm). Posebnu grupu čine superporozni hidrogelovi (srednja veličina pora iznosi više od 100 μm) za koje je karakteristična vrlo brza apsorpcija velikih količina vode.

Parametar koji određuje veličinu pora, ξ , predstavlja linearno rastojanje između dva susedna umreženja i može se izračunati pomoću sledeće jednačine:

$$\xi = \alpha \cdot \left(\frac{-2}{r_0} \right)^{1/2} \quad (1)$$

α je stepen izduženja polimernih lanaca u bilo kom pravcu, $\left(\frac{-2}{r_0} \right)^{1/2}$ je kvadratni koren srednjeg kvadrata rastojanja krajeva neporemećenog lanca između dva susedna mesta umreženja. Za izotropne nabubrela hidrogelove α se može izračunati iz jednačine:

$$\alpha = v_{2,s}^{-1/3} \quad (2)$$

gde je $v_{2,s}$ zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju: $v_{2,s} = V_p / V_{gel} = 1/q_e$, V_p je zapremina polimera, V_{gel} zapremina nabubrela gela, a q_e je ravnotežni stepen bubrenja gela. Kvadratni koren srednjeg kvadrata rastojanja krajeva neporemećenog lanca između dva susedna mesta umreženja, $\left(\frac{-2}{r_0} \right)^{1/2}$ se može izračunati iz sledeće jednačine:

$$\left(\frac{-2}{r_0} \right)^{1/2} = 1 \cdot (C_n \cdot N)^{1/2}, \quad N = \frac{2\bar{M}_c}{M_r} \quad (3)$$

gde je M_r molska masa osnovnih jedinica od kojih je polimerni lanac sastavljen, M_c molska masa polimernih lanaca između dve tačke umreženja, C_n je karakterističan odnos koji definiše konformaciju polimera i konstantan je za dati sistem polimer-rastvarač, N je broj umreženja po lancu, l dužina C-C veze ($1,54 \text{ \AA} = 1,54 \cdot 10^{-10} \text{ m}$). Kombinacijom gornjih jednačina dobija se izraz za proračun veličine pora:

$$\xi = v_{2,s}^{-1/3} \cdot \left(\frac{2C_n \bar{M}_c}{M_r} \right)^{1/2} \cdot 1 \quad (4)$$

Veličina pora se može odrediti indirektno iz rezultata ispitivanja mehaničkih svojstava hidrogelova ili rezultata merenja bubrenja hidrogelova.

Dve osnovne metode koje se koriste za definisanje strukture hidrogelova preko parametara mreže su teorija ravnotežnog bubrenja i teorija gumolike elastičnosti.

1.4.2. Teorija ravnotežnog bubrenja

Struktura hidrogelova se može analizirati pomoću Flory-Rehner-ove teorije bubrenja neutralnih hidrogelova. Na umreženi polimerni gel, koji je potopljen u fluid, deluju dve sile: termodinamička sila mešanja polimera i molekula tečnosti i elastična sila otpora polimernih lanaca. U stanju ravnoteže ove dve sile se

izjednačavaju. Gibbs-ova slobodna energija procesa bubrenja se može predstaviti sledećim izrazom:

$$\Delta G_u = \Delta G_e + \Delta G_m \quad (5)$$

gde je ΔG_e doprinos elastične sile otpora unutar gela, ΔG_m je član koji potiče od spontanog mešanja molekula fluida sa polimernim lancima-to je mera kompatibilnosti polimera i okolnog fluida. Kompatibilnost se izražava preko Flory-Huggins-ovog parametra interakcije, χ , za određeni par polimer-rastvarač. Diferenciranjem gornje jednačine, pri konstantnom pritisku i temperaturi, dobija se hemijski potencijal rastvarača:

$$0 = \Delta(\mu)_u = \Delta\mu_1 - \Delta\mu_{1,o} = \left(\frac{\partial(\Delta G_{\text{total}})}{\partial n} \right)_{T,P} = \Delta\mu_e + \Delta\mu_m \quad (6)$$

gde su $\Delta\mu_1$ i $\Delta\mu_{1,o}$ hemijski potencijali rastvarača u polimernom gelu i čistog rastvarača, n je broj molova rastvarača.

Kada se dostigne ravnoteža razlika između hemijskih potencijala rastvarača u gelu i izvan njega postaje jednaka nuli. Promena hemijskog potencijala zbog mešanja može se izraziti preko toplote i entropije mešanja, a promena hemijskog potencijala do koje dolazi zbog dejstva elastične sile otpora polimernih lanaca se može odrediti pomoću teorije gumolike elastičnosti. Izjednačavanjem ova dva doprinosa, dolazi se do jednačine za izračunavanje molske mase između dve tačke umreženja:

$$\frac{1}{\overline{M}_c} = \frac{2}{\overline{M}_n} - \frac{(\overline{v}/V_1 [\ln(1-v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_{1,2} \cdot v_{2,s}^2])}{v_{2,s}^{1/3} - v_{2,s} / 2} \quad (7)$$

\overline{M}_n je molska masa polimernih lanaca sintetisanih pod istim uslovima, ali bez prisustva umreživača, \overline{v} je specifična zapremina polimera, V_1 je molarna zapremina vode, a $v_{2,s}$ je zapreminski udeo polimera u nabubrelom stanju.

Peppas i Merrill su modifikovali Flory-Rehner-ovu teoriju za hidrogelove sintetisane u vodi. Prisustvo vode utiče na promenu člana $\Delta\mu_e$ pa se u proračun za zapreminski udeo mora uzeti u obzir i gustina lanaca pri umrežavanju.

1.4.3. Teorija gumolike elastičnosti

Hidrogelovi pokazuju povratne elastične deformacije. Kada su izloženi relativno maloj deformaciji, ispod 20 %, hidrogelovi se u kratkom vremenskom periodu u potpunosti vraćaju u prvobitno stanje. Teorija gumolike elastičnosti, koju su razvili Treloar i Flory za vulkanizovanu gumu i koju je Flory modifikovao, iskorišćena je za

tumačenje strukture hidrogelova. Silliman, a kasnije Peppas i Merrill, su modifikovali jednačinu za hidrogelove sintetisane u vodi:

$$\tau = \frac{\rho RT}{M_c} \cdot \left[1 - \frac{2\bar{M}_c}{M_n} \right] \cdot \left(\alpha - \frac{1}{\alpha^2} \right) \cdot \left(\frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right)^{1/3} \quad (8)$$

τ je napon koji je primenjen na uzorak polimera, ρ je gustina polimera, R je univerzalna gasna konstanta, T je apsolutna temperatura, a \bar{M}_c je željena srednja molska masa između dve tačke umreženja. Teorija gumolike elastičnosti se koristi za proučavanje hemijski i fizički umreženih hidrogelova, kao i za hidrogelove umrežene sekundarnim vodoničnim vezama.

Ukoliko su hidrogelovi izloženi deformaciji istežanja, molska masa između dve tačke umreženja, M_c , se može izračunati iz rezultata ispitivanja mehaničkih svojstava hidrogelova pomoću sledećih jednačina:

$$E_{red} = E'_{swollen} / (1/q)^n \quad (9)$$

$$E_{red} = 3Fv_c RT \quad (10)$$

$E_{swollen}$ je modul elastičnosti hidrogela nabubrelog do ravnoteže, E_{red} je redukovani modul elastičnosti, E' je modul elastičnosti, q je stepen bubrenja hidrogela, v_c efektivna gustina umreženja, R je univerzalna gasna konstanta, T je apsolutna temperatura. EkspONENT n se određuje iz zavisnosti E' od ravnotežnog stepena bubrenja, q_e .

Flory je 1976. godine razradio teoriju gumolike elastičnosti primenom teorije o fluktuirajućim čvorovima mreže u kojoj se pretpostavlja da čvorovi mreže mogu oscilovati oko svojih srednjih položaja. Prema toj teoriji postoje dva ekstremna slučaja: 1) afine mreže-mreže kod kojih su potpuno potisnute fluktuacije čvorova, 2) fantomske mreže-mreže kod kojih lanci i čvorovi slobodno prolaze jedni kroz druge bez razaranja mreže. F u jednačini (16) je faktor čija je vrednost za afine mreže 1, a za fantomske mreže $F=1-2/f$, gde je f funkcionalnost umreživača. Model fantom mreže bolje opisuje hidrogelove u nabubrelom stanju.

1.4.4. Difuzija tečnosti u gel

Kada se suv uzorak dovede u kontakt sa vodom molekuli vode difunduju unutar uzorka do uspostavljanja ravnoteže. Difuzija vode u gel može se opisati Fick-ovim zakonom difuzije:

$$J_i = -D_{ip} \cdot \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \quad (11)$$

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_{ip} \cdot \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \quad (12)$$

gde je c_i koncentracija, j_i maseni fluks; D_{ip} koeficijent difuzije, a x i t su nezavisno promenljive prostora i vremena. Prilikom izvođenja ovih jednačina usvojene su neke pretpostavke. Po Fick-ovom zakonu koeficijent difuzije je nezavisan od koncentracije, a j_i je fluks koji je izveden iz prosečne masene brzine v . Rešenja jednačina sadrže početne i granične uslove i odgovaraju opisu eksperimentalnih uslova.

Količina vode koju je uzorak apsorbovao u vremenu t u odnosu na ukupno apsorbovanu količinu vode, odnosno transport vode u gel, se može prikazati sledećom jednačinom:

$$\frac{w_t}{w_e} = kt^n \quad (13)$$

koja važi uz uslov $w_t/w_e < 0,6$.

U gornjoj jednačini w_t je masa vode koju je hidrogel apsorbovao posle nekog vremena; w_e je masa vode koju je gel apsorbovao u ravnotežnom stanju (pri ravnotežnom stepenu bubrenja); k je konstanta bubrenja, a n je difuzioni eksponent.

Poznavanjem vrednosti difuzionog eksponenta dobija se informacija o mehanizmu apsorpcije vode (Tabela 2).

Tabela 2: Mehanizam transporta penetranta u gel na osnovu vrednosti difuzionog eksponenta.

Difuzioni eksponent, n	Tip transporta
0,5	Fikovska difuzija
0,5 < n < 1,0	Ne-Fick-ova difuzija
1,0	Tip II (Case II)
n > 1,0	Tip III (Super Case II)

Koeficijent difuzije D se može odrediti iz sledeće jednačine:

$$\frac{w_t}{w_e} = 4 \cdot \sqrt{\frac{D \cdot t}{\pi \cdot l^2}} - \pi \frac{D \cdot t}{\pi l^2} - \frac{\pi (Dt)^{\frac{3}{2}}}{3 \pi l^2} \quad (14)$$

gde je t vreme, D koeficijent difuzije, w_t i w_e su mase vode u trenutku t i u ravnotežnom stanju, l je debljina suvog uzorka.

1.5. Mehanička svojstva hidrogelova

Predviđanje i kontrola mehaničkih svojstava hidrogelova je vrlo važna zbog njihove primene. Mehanička svojstva zavise od strukture polimera, stepena umreženja i stepena bubrenja. Promena ova tri faktora omogućavaju dizajniranje hidrogelova željenih mehaničkih svojstava. Jedna od najvažnijih primena hidrogelova je u sistemima za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci gde se koriste hidrogelovi osetljivi na spoljne stimulanse. Lekovita supstanca je

zaštićena u mreži gela koji je u nehidratisanom stanju sve dok se uslovi sredine ne promene i izazovu bubrenje gela, a time i otpuštanje lekovite supstance. Pri kontrolisanom otpuštanju moguće je otpustiti lekovitu supstancu iz hidrogela na određenom mestu i održavati njenu koncentraciju na željenom nivou duži vremenski period. Radi zaštite osetljivih terapijskih sredstava do trenutka njihovog otpuštanja iz hidrogela-nosača potrebno je odabrati odgovarajući način sinteze koji omogućava da dobijeni polimer zadržava svoja fizička i hemijska svojstva i ima potrebnu mehaničku jačinu.

Postoji više načina za kontrolisanje mehaničkih svojstava hidrogelova: promena sastava komonomera, promena stepena umreženja i promena reakcionih uslova. Ove promene ne utiču samo na mehanička svojstva, već na celokupno ponašanje hidrogelova.

1.5.1. Uticaj promene sastava

Ukoliko hidrogel nije homopolimer, jedan od najjednostavnijih načina za promenu mehaničkih svojstava je promena sastava, odnosno sadržaja komonomera u hidrogelu. Povećanje količine komponente boljih mehaničkih svojstava će uticati na mehanička svojstva finalnog proizvoda; npr. zamenom akrilata metakrilatima povećava se krutost polimera. Dodatak komonomera koji može da gradi vodonične veze takođe utiče na poboljšanje mehaničkih svojstava jer obrazovane vodonične veze deluju kao dodatno, fizičko, umreženje.

I sadržaj hidrofilne komponente utiče na mehanička svojstva hidrogelova. Porast sadržaja hidrofilne komponente utiče na povećanje stepena bubrenja hidrogelova, što za posledicu ima slabija mehanička svojstva.

1.5.2. Uticaj stepena umreženja

Jedan od najvažnijih faktora koji utiču na mehanička svojstva hidrogelova je stepen umreženja, odnosno gustina umreženja. Povećanje količine agensa za umrežavanje značajno poboljšava mehanička svojstva i temperaturu prelaska u staklasto stanje posmatranog hidrogela. To je značajno jer se hidrogelovi koriste u nabubrelom stanju kada su njihova mehanička svojstva inače slabija, pa veća količina umreživača doprinosi boljim mehaničkim svojstvima i u nabubrelom stanju. Sadržaj umreživača utiče i na ostala svojstva hidrogela. Povećanje količine umreživača dovodi do smanjenja difuzije i brzine bubrenja, a samim tim i do smanjenja ravnotežnog stepena bubrenja.

Porast stepena umreženja do određene, kritične vrednosti, poboljšava mehanička svojstva hidrogelova. Ukoliko je stepen umreženja veći od kritičnog, javlja se suprotan efekat: hidrogel postaje isuviše krt i gubi svoja elastična svojstva, a samim tim se smanjuje i stepen bubrenja.

1.5.3. Uticaj reakcionih uslova

Uslovi pod kojima se odvija reakcija takođe mogu značajno da utiču na svojstva hidrogelova. Najznačajniji faktori su vreme reakcije,

temperatura, vrsta i količina rastvarača. Ukoliko se pri sintezi hidrogela koriste velike količine rastvarača, molekuli umreživača će u većoj meri obrazovati prstenove nego što će se odigravati reakcije umrežavanja polimernih lanaca. Stepem umreženja će zbog toga biti manji što daje hidrogel sa slabijim mehaničkim svojstvima. Tip rastvarača takođe utiče na strukturu kopolimera koja će se dobiti. Jonska jačina i pH vrednost rastvora mogu uticati na reaktivnost monomera na različite načine, pa se tako od nasumičnog kopolimera može dobiti blok kopolimer. Generalno, monomeri su reaktivniji ukoliko su u nejonizovanom stanju ili ukoliko je jonska jačina rastvora dovoljno velika da sprečava jon-jon interakcije.

1.6. Hidrogelovi osetljivi na spoljne uticaje

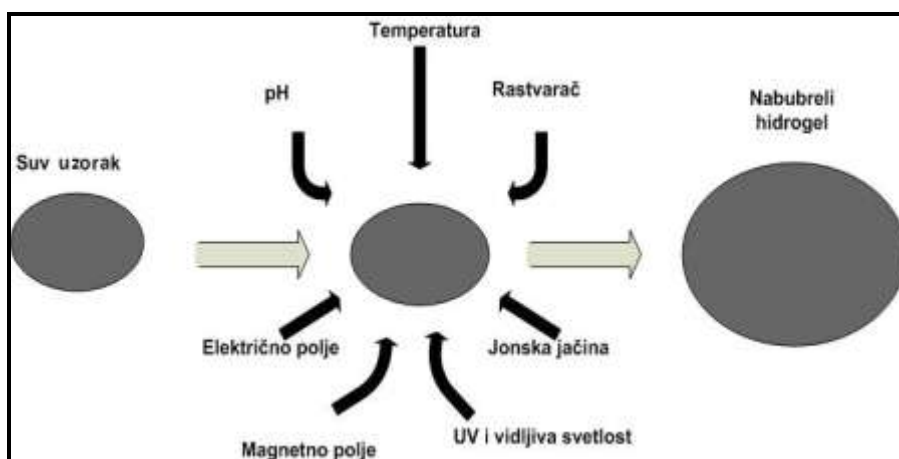
Značajnu grupu hidrogelova čine hidrogelovi osetljivi na spoljne uticaje. Promene u spoljašnjoj sredini izazivaju promene svojstava hidrogelova što se manifestuje promenama u bubrenju, strukturi mreže, mehaničkim svojstvima, itd. Hidrogelovi mogu biti osetljivi na jedan ili više faktora iz okoline, što zavisi od njihove strukture i sastava.

Spoljni uticaji mogu biti fizički (temperatura, pritisak, električno polje, magnetno polje, zvuk, svetlost), hemijski (pH vrednost sredine, jonska jačina) i biološki (prisustvo biomolekula). Posebno je bitan uticaj temperature i pH vrednosti sredine, zato što su ova dva faktora tipična za fiziološke, biološke i hemijske sisteme.

Zavisno od vrste stimulansa na koji reaguju hidrogelovi se dele na: pH-, temperaturno-, elektro-osetljive hidrogelove, zatim hidrogelove osetljive na svetlost i ostale hidrogelove.

Zahvaljujući tome što menjaju svojstva sa promenama u svom okruženju, hidrogelovi se nazivaju „inteligentnim” materijalima.

Upravo zbog njihove prirode, ovi materijali imaju široku primenu, za biosenzore, separacione membrane, veštačke mišiće, sisteme za kontrolisano otpuštanje lekova, za izdvajanje teških metala i prečišćavanje otpadnih voda i slično.



Slika 1.3. Faktori koji utiču na bubrenje hidrogelova osetljivih na spoljne stimulanse.

1.7. Primena hidrogelova

Polimerni hidrogelovi imaju veliku primenu u medicini i farmaciji zbog svoje biokompatibilnosti i hidrofilnosti. Hidrogelovi su sličniji živom tkivu više nego bilo koja druga vrsta sintetskih biomaterijala. Visok sadržaj vode i mekana konstitucija hidrogelova u nabubrelom stanju svode trenje i iritaciju sa okolnim tkivom na najmanju moguću meru i slično živom tkivu dozvoljava difuziju proizvoda metabolizma. Hidrogelovi osetljivi na spoljne stimulanse pružaju velike mogućnosti za različite primene jer se njihova fizičko-hemijska i mehanička svojstva mogu kontrolisati promenama fizioloških uslova (pH vrednost, temperatura, jonska jačina, promena koncentracije biološki aktivnih supstanci, itd.). Mogu da pokazuju svojstva tečnih ili čvrstih supstanci zavisno od stanja u kome se nalaze.

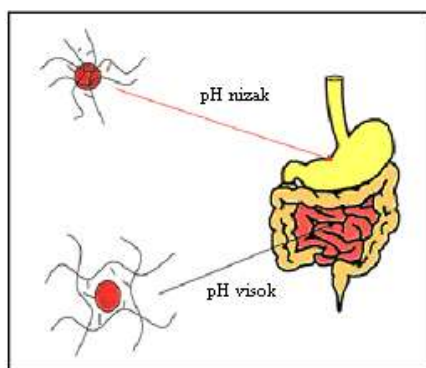
Najveću primenu hidrogelovi imaju u medicini. Koriste se za izradu mekih kontaktnih sočiva, mekih tkiva, prevlaka za opekotine, veštačkih hrskavica, veštačkih glasnih žica i dr. Sposobnost hidrogelova da apsorbuju i otpuštaju molekule različitih veličina je omogućila njihovu primenu kao nosača lekovitih supstanci za različite načine primene: nazalnu, oralnu, vaginalnu, transdermalnu i oftalmološku. Poslednjih godina veliku pažnju istraživača privlače pH-osetljivi hidrogelovi koji bi se koristili u genskoj terapiji. Negativno naelektrisanje i veličina molekula otežava transport DNK u ćelije. Cilj je da se modifikacijom polimera utiče na konformacione promene prilikom bubrenja pri promeni pH vrednosti od 5 do 7, a rezultat je efikasniji transport DNK u ćeliju. U Tabeli 3 data je primena određenih hidrogelova u medicini.

pH-osetljivi hidrogelovi se najviše koriste za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci. U stomaku je kisela sredina (pH=1-3) za razliku od pH vrednosti u crevima gde je neutralna sredina. Ova razlika je dovoljno velika da izazove razliku u bubrenju pH-osetljivih hidrogelova i na taj način utiče na otpuštanje lekovitih supstanci.

Tabela 1.3: Upotreba sintetskih gelova u medicini.

Primena	Polimeri
Kateteri	PHEMA
Krvni detoksikanti	PHEMA
Senzori (elektrode)	PAAm, PHEMA
Premošćivači krvnih sudova	kalemljeni PHEMA/etilmetakrilat
Supstrati za kulture ćelija	PHEMA, PNVP
Materijali kompatibilni sa krvi	PHEMA, PNVP, PAAm
Blokiranje oksidaze glukoze	PHEMA
Kontaktna sočiva	PHEMA, PNVP
Veštačke rožnjače	PHEMA
Zamena za meka tkiva	PHEMA
Suđerasto tkivo za spajanje kostiju	PHEMA
Veštačka hrskavica	PVA
Membrana za hemodijalizu	PHEMA, PNVP, PVA
Nosači za antitela	PHEMA
Proteze za ligamente	PHEMA
Prenosioci antibiotika	PHEMA
Veštačke glasne žice	PVA
Zubne prevlake i veštački zubi	PHEMA

Za katjonske gelove je karakteristično da maksimalno bubre u kiseloj sredini što omogućava otpuštanje lekovitih supstanci u želucu. Nasuprot njima, hidrogelovi koji sadrže anjonske grupe koriste se kao nosači lekovitih supstanci koji treba da se otpuste u neutralnoj i slabo baznoj sredini, npr. crevima. Bubljenje ovih hidrogelova je praktično zanemarljivo u stomaku. Prolaskom gela od stomaka kroz donji deo gastrointestinalnog trakta (GI) (tanko crevo-pH se kreće od 5,5 do 7; debelo crevo-pH je u intervalu od 7 do 8) dolazi do porasta bubrenja zbog porasta pH vrednosti sredine i jonizacije karboksilnih grupa.



Slika 1.4. Bubljenje hidrogela u zavisnosti od pH vrednosti u gastrointestinalnom traktu.

Prednost hidrogelova kao nosača za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci u odnosu na klasične metode oralnog ili injektivnog doziranja je višestruka. Uzimanjem lekovite supstance

putem tablete ili injekcije, njena koncentracija u krvi u početku naglo raste iznad željene koncentracije, a posle određenog vremena naglo opada ispod te koncentracije. Kontrolisanim otpuštanjem lekovite supstance iz hidrogela moguće je održavati koncentraciju na željenom nivou duži vremenski period, koji se kreće od 24 h, do više od mesec dana.

Hidrogelovi koji se koriste kao nosači mogu biti biodegradabilni, koji se raspadaju u telu dajući netoksičan otpad, kao što su polilaktidi (PLA), poliglikolidi (PGA) i dr.

U Tabeli 1.4 prikazane su lekovite supstance i hidrogelovi-nosači koji se koriste u farmaciji, kao i vrsta stimulansa na koji su osetljivi.

Hidrogelovi se mogu koristiti kao:

- čvrste forme u obliku kalupa u kom su sintetisani (diskovi kao što su kontaktna sočiva, cilindri, ploče),
- komprimovani praškovi za oralnu primenu,
- mikročestice (bioadhezivni nosači za terapije rana),
- obloge (za implante i katetere),
- membrane (koriste se za transdermalnu primenu kao nosači lekovitih supstanci),
- tečnosti (na mestu primene prelaze u gel).

Tabela 1.4: Hidrogelovi osetljivi na spoljne uticaje koji se koriste kao nosači za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci.

Spoljni uticaj	Polimer	Lekovita supstanca
Magnetno polje	Poli(etilen-ko-vinilacetat) (EVA)	Insulin
Ultrazvuk	EVA i poli(etilen-ko-vinilalkohol)	Insulin
Električno polje	Poli(2-hidroksietilmetakrilat) (PHEMA)	Propanolhidrohlorid
Glukoza	EVA	Insulin
Urea	Poli(metilviniletar-ko-maleinska kiseline)	Hidrokortizon
Morfijum	Poli(metilviniletar-ko-maleinska kiseline)	Naltrexon
Antitela	EVA	Naltrexon, etinilestradiol
pH	Hitozan-poli(etilenoksid) (PEO)	Amoksicilin, metronidazol
	Poli(akrilna kiselina) i PEO	Salicilamid, nikotinamid, klonidinhidrohlorid, prednizolon
	Želatin-PEO	Riboflavin
	PHEMA	Salicilna kiselina
	Poli(akrilamid-ko-maleinska kiselina)	Terbinafinhidrohlorid
	Poli(N-vinilpirolidon), polietilen glikoldiakrilat, hitozan	Teofilin, 5-fluorouracil
Temperatura	Poli(N-izopropilakrilamid)	Heparin
pH i temperatura	Poli(N-izopropilakrilamid-ko-butilmetakrilat-ko-akrilna kiselina)	Kalcitonin

Hidrogelovi koji reaguju na specifične vrste molekula, kao što su glukoza ili antigeni, koriste se kao biosenzori i kao sistemi za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci. Značajnu perspektivu za primenu kod kontrolisanog otpuštanja lekovitih supstanci imaju hidrogelovi osetljivi na svetlost, električne impulse i pritisak.

Najveća slabost hidrogelova osetljivih na spoljne uticaje jeste njihovo relativno sporo reagovanje na te uticaje. Najlakši način da se prevaziđe ova slabost jeste izrada tanjih i manjih hidrogelova. Međutim, ovo obično čini hidrogel lomljivim i krtnim, pa on nema dovoljnu mehaničku jačinu za primenu. Za uspešniju primenu hidrogelova značajna je i njihova biokompatibilnost i

biodegradabilnost i sve se više istražuju polimeri koji imaju ovakva svojstva.

U Tabeli 1.5 su prikazani hidrogelovi koji se mogu naći na tržištu.

Tabela 1.5: Proizvodi na bazi hidrogelova koji se mogu naći na tržištu.

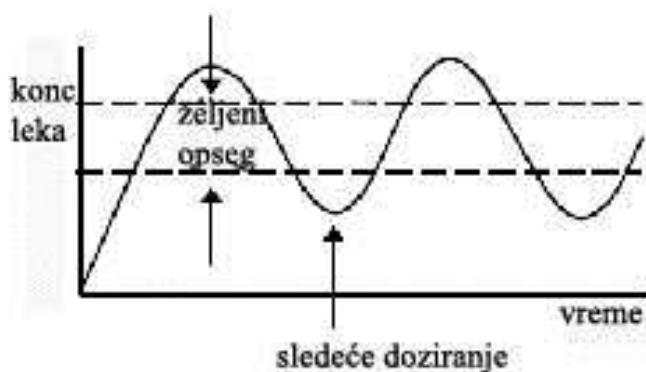
Proizvod	Proizvođač	Sastav hidrogelova	Indikacija	Referenca
SQZ Gel™	Macromed (Sandy, UT, USA)	Hitozan Polietilenglikol	Hipertenzija	http://www.macromed.com
Hycore-V™ i R™	CeNeS Drug Delivery (Irvine, UK)	-	Vaginalne i rektalne infekcije	http://www.cenes.com
Cervidil	Controlled Therapeutics, UK	Polietilenoksid i uretan	Iniciranje kontrakcija prilikom porođaja	http://www.btgpic.com
Moraxen™	CeNeS Pharmaceuticals	-	Bol završne faze kancera	http://www.cenes.com
Smart Hydrogel™	MedLogic Global	Poli(akrilna kiselina) i poli(oksipropilen-ko- oksietilen glikol)	Koriste se za razvoj oftamoloških, nazalnih, oralnih, vaginalnih, transdermalnih i neaerosolnih lekovitih supstanci koje se unose inhalacijom	http://www.medlogic.com
Aquamere™	Hydromer, (Somerville, NJ, USA)	Poli(N-vinil-2-pirolidon) (PVP) i kopolimeri PVP kalemljeni sa uretanom	Nega kože	http://www.hydrumer.com
Aquatix™ II	Hydromer	Hitozan-PVP	Gelovi koji se nanose na rane i opekotine, implanti	http://www.hydrumer.com
Hypan	Hymedix International (Dayton, NJ, USA)	Derivati akrilata	Za proizvodnju mekih kontaktnih sočiva	http://www.hymedix.com

1.7.1. Sistemi za kontrolisano otpuštanje

Kontrolisano otpuštanje je otpuštanje malih molekula (lek, protein, DNK) u fiziološku okolinu zadatom brzinom. Način na koji se lek unosi u organizam skoro je isto toliko važan kao i sam lek. Mnogi lekovi imaju uzan terapijski indeks (razlika između terapijskog i toksičnog nivoa), pa je stoga potrebno više injektiranja, što može dovesti do infekcije i krvarenja ili trovanja sa jačim lekovima, zbog čega se neki lekovi ne mogu dozirati na tradicionalni način. Koncentracija leka na mestu delovanja mora

da se održava na nivou koji obezbeđuje maksimalnu terapeutsku korist i minimalnu toksičnost. Istraživači moraju da vode računa o tome kako da se izvede transport leka na određeno mesto u organizmu i, kada se tamo nađe, kako da se učini pristupačnim za upotrebu. Osim toga, kontrolisanim otpuštanjem se poboljšava iskorišćenje lekova sa malim vremenom poluraspada *in vivo* (neki peptidi imaju vreme poluraspada od samo nekoliko min ili sekundi).

Najveće ograničenje u farmaceutskoj industriji je činjenica da su sadašnje (tradicionalne) metode za otpuštanje lekova, kao što su injekcije, tablete i sprejovi, neefikasne za određene lekove, tako da se moraju unositi više puta da bi se koncentracija leka u krvi održala na terapeutski efikasnom nivou u određenom vremenskom intervalu. Za ovakvo unošenje lekova je tipično da se nivo leka diže do maksimuma i pada na minimum, kada je ponovno doziranje leka neophodno. Ovo je naročito problem kod lekova sa uskim terapeutskim indeksom jer će se nivo leka dizati iznad efektivne oblasti, zalazeći u region toksičnog dejstva u kome su povećani loši prateći efekti, i padati ispod minimalne dozvoljene koncentracije, u kojoj lek nije efikasan. Tradicionalno otpuštanje je prikazano na slici 1.5.



Slika 1.5. Tradicionalno otpuštanje leka.

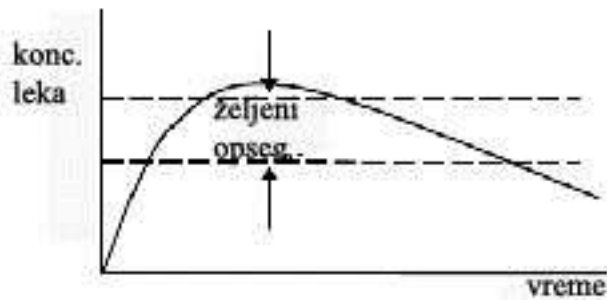
Razvoj sistema za kontrolisano otpuštanje lekova i bioaktivnih supstanci predstavlja oblast istraživanja od velike važnosti u farmaceutskoj i hemijskoj industriji, koja je skladu sa ekspanzijom u istraživanju i proizvodnji novih lekova. Usled velikih troškova vezanih za proizvodnju lekova, važno je da se nađu što efikasniji sistemi za kontrolisano otpuštanje.

Mnogi od sistema za kontrolisano otpuštanje lekova koji se danas koriste, ili se tek razvijaju, sastoje se od leka koji je dispregovan u polimernom nosaču. Ovi nosači su predviđeni da otpuštaju lekove na kontrolisan način u periodu od nekoliko minuta do više godina.

Sam naziv sistemi za kontrolisano otpuštanje lekova ukazuje na njihove dve osnovne funkcije: kontrolu brzine otpuštanja i kontrolu mesta otpuštanja.

Održavano otpuštanje

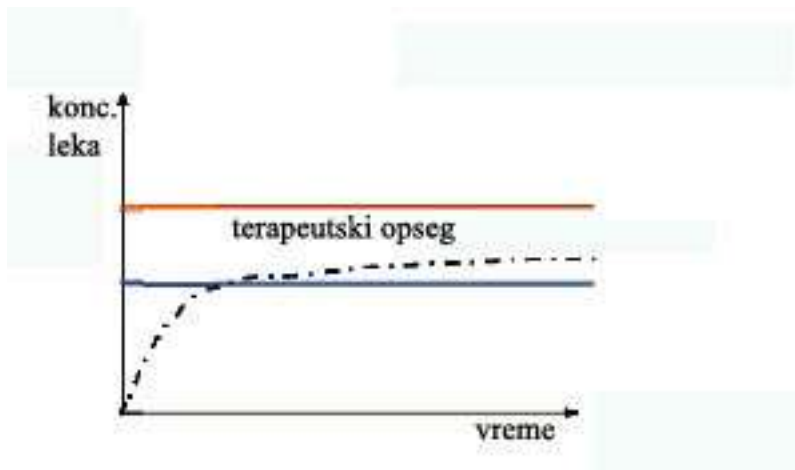
Održavano otpuštanje je malo poboljšanje u odnosu na tradicionalni način. Ono omogućuje produženo ali ne i ravnomerno otpuštanje leka i smanjuje potrebu za ponovljenim doziranjem. Kada se postigne maksimalni nivo leka, količina leka u telu sporo opada tako da je potrebno duže vreme da padne ispod terapijskog opsega. Tehnologije za održavano otpuštanje koje se danas koriste uključuju: komplekse, prevlake koje se sporo rastvaraju, suspenzije, emulzije i komprimovane tablete. Brzina otpuštanja zavisi od uslova u okolnoj sredini; retko traju duže od 12 časova, tako da je korisno dejstvo ograničeno. Održavano otpuštanje je prikazano na slici 1.6.



Slika 1.6. Održavano otpuštanje leka

Kontrolisano otpuštanje

Ova tehnika predstavlja značajan napredak u odnosu na ranije načine otpuštanja leka. Otpuštanje se može održavati duže vreme i na njega slabo utiču uslovi u okolnoj sredini. Grafički prikaz kontrolisanog otpuštanja dat je na slici 4. 3. U slučaju koji je prikazan na slici, model otpuštanja iz naprave, u odnosu na brzinu i trajanje, bi bio takav da se koncentracija leka u telu održava u terapijski efikasnom opsegu dovoljno dugo vremena. Prednosti ovih sistema su da se ista količina leka administrira jednim doziranjem sa povećanom efikasnošću sa i smanjenim pratećim pojavama.

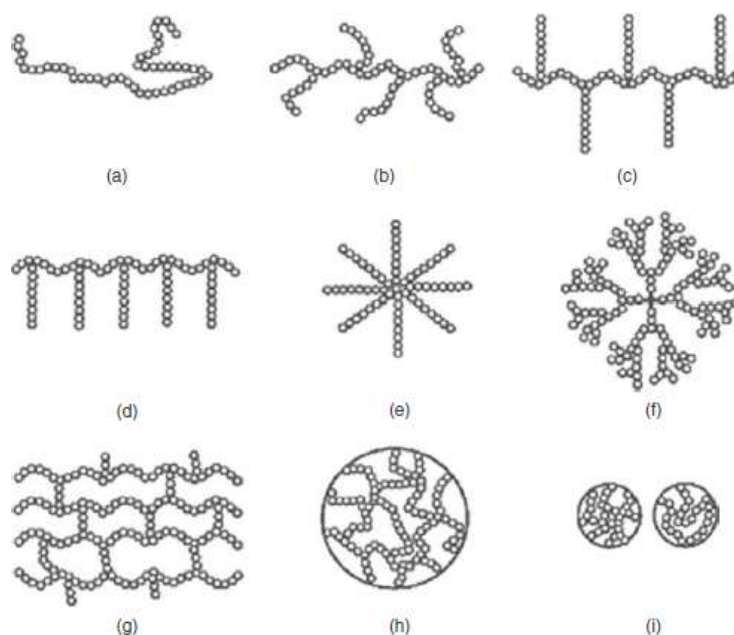


Slika 1.7. Kontrolisano otpuštanje leka.

2. NANOGELOVI

2.1. Uvod u nanogelove

Mikrogelovi i nanogelovi su posebna klasa polimernih gelova čija veličina varira u opsegu ispod mikrometarske skale i javljaju se u obliku trodimenzionalne mreže hidrofilnih ili hidrofobnih polimera. Mikrogelovi su prvi put sintetisani 1935. godine (Staudinger Husemann) i definisani su kao disperzna faza polimernih čestica gela obično u opsegu veličina od 1mm do 1 μ m. Koriste se različite definicije kako bi se objasnio i opisao pojam nanogela. Najčešće se definišu kao makromolekuli gela u opsegu veličina od deset do sto nanometra. Dobijaju se ili kovalentnim umrežavanjem pri čemu nastaju stabilne i nerastvorne trodimenzionalne mreže ili nestabilni (fizički) gelovi dobijeni umrežavanjem vodoničnim vezama, van der Valsovim silama, preplitanjem lanaca ili kroz stvaranje kristaliničnih oblasti. Na slici 2.1 prikazane su različite molekulske strukture nanogelova. Nanogelovi imaju široku primenu kao biosenzori, veštački mišići, biomaterijali, za hemijsku separaciju, katalizu, kontrolisano otpuštanje lekova, itd. Zbog njihove prirode da brzo bubre i kontrahuju, kao odgovor na spoljašnji stimulus kao što su temperatura, pH, svetlost, magnetno i električno polje, svetlost, pritisak, itd. nanogelovi su privukli pažnju kao "pametni materijali" za biotehnoške i biomedicinske primene. Nanogelovi su jako važni za kontrolisano otpuštanje lekova i druge biomedicinske primene zbog njihove spore degradacije, biokompatibilnosti, sposobnosti da reaguju na spoljne stimulse i sposobnosti da razviju ciljano mesto za otpuštanje lekova.



Slika 2.1. Molekulske strukture (a) linearnog polimera, (b) razgranatog polimera, (c) kalemljenog polimera, (d) grebenastog polimera, (e) zvezdastog polimera, (f) dendri polimera, (g) umreženog polimera ili gela, (h) mikrogela, i (i) nanogelova.

2.2 . Klasifikacija nanogelova

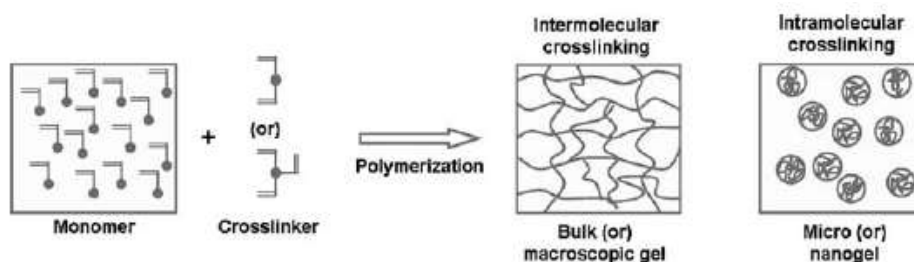
Na osnovu tipa veze koja se formira u strukturi gela, nanogelovi se dele na dve glavne grupe: fizički i hemijski umrežene nanogelove. Fizički gelovi ili pseudogelovi se formiraju umrežavanjem slabih veza kao što su van der Valsove sile, hidrofobne i elektrostatičke interakcije, ili vodonične veze. S obzirom da su polimerni lanci u fizički umreženim gelovima povezani slabim vezama, promene u temperaturi, pH ili nekim drugim parametrima mogu narušiti strukturu gela. Mreže hemijski umreženih gelova se sastoje od hemijskih veza koje se ne mogu rastvoriti u rastvaraču. Postoji nekoliko načina za dobijanje hemijski umreženih nanogelova: kopolimerizacijom monomera u prisustvu umreživača, umrežavanje radijacijom i polikondenzacija.

2.3. Sinteza nanogelova

Nanogelovi su od velikog značaja, s obzirom na činjenicu da su to "pametni materijali" koji imaju prirodna svojstva gela i koloida, tako da se u poslednje vreme stavlja akcenat na njihovu sintezu i primenu. Postoji nekoliko metoda za dobijanje nanogelova, ali svaki metod ima sopstvene prednosti i mane. Postoje tri glavne metode dobijanja nanogelova: (1) simultano umrežavanje polimerizacijom, (2) idealno intramolekularno umrežavanje, (3) svođenje makroskopskih gelova na nano nivo.

2.3.1. Simultano umrežavanje polimerizacijom

Ovom metodom se mreža gela priprema u jednom stupnju pri čemu se polimerizacija kao i proces umrežavanja odigrava istovremeno. Pored monomera, koristi se i umreživač sa kojim je moguće uspostavljanje trodimenzionalne mreže. U takvom procesu polimerizacije, u procesu inicijacije reakcije, slobodni radikali imaju sklonost da reaguju sa monomerom i molekulima umreživača. Slika 2.2 pokazuje razliku u ponašanju između inter i intra-umrežavanja u simultanom procesu polimerizacije.



Slika 2.2. Načini inter- i intramolekulskog umrežavanja u simultanom umrežavanju polimerizacijom.

Mikro- i nanogelovi se mogu uspešno dobiti u procesu umrežavanja polimerizacijom uz pomoć: (a) polimerizacije u masi, (b) polimerizacije u rastvoru, (c) emulzione polimerizacije (d) suspenzione polimerizacije, i (e) metode nekonvencionalne polimerizacije.

Polimerizacija u masi

Polimerizacija u masi se retko koristi za pripremu nanogelova, ali je to jako pogodna metoda za sintezu makroskopskih gelova. Usled efekta samo-ubrzanja u reakciji polimerizacije, raste viskoznost reakcione smeše i nije moguće kontrolisati formiranje proizvoda makrogeliranja. Čak i pre procesa makrogeliranja, sistem ima različitu nehomogenu gustinu umreživanja. Skorašnja istraživanja su otkrila da je simultana polimerizacija u masi preko slobodnih radikala efikasna u proizvodnji čestica nanogela. Međutim, korišćenje ovog tipa polimerizacije mora još da se istraži u oblasti sinteze nanogelova.

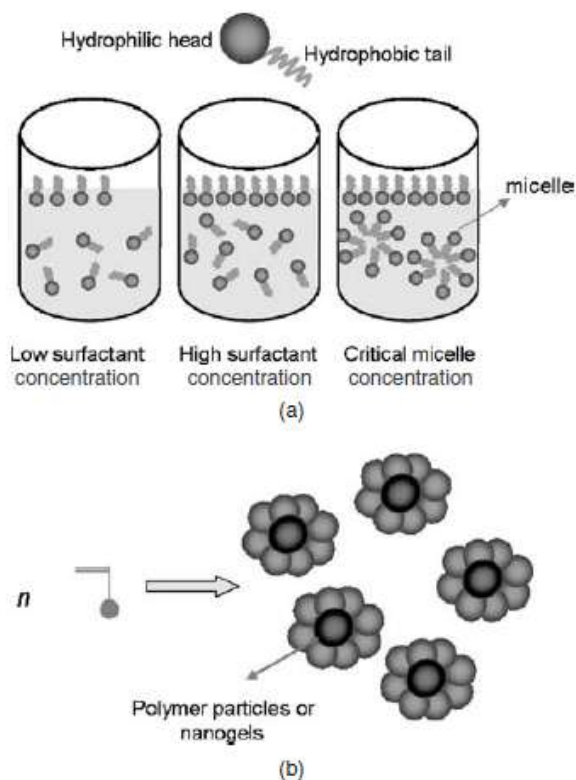
Polimerizacija u rastvoru

Polimerizacija preko slobodnih radikala umrežavanjem nije odgovarajuća tehnika za proizvodnju nanogelova, s obzirom da kao rezultat daje širu raspodelu veličina nego bilo koja druga konvencionalna tehnika polimerizacije. Ipak, ova tehnika je pogodna za razumevanje kinetike geliranja, a i nema potrebe za dodavanjem surfaktanata. Ono što predstavlja problem jeste kontrola stupnja propagacije linearnih polimernih lanaca i ravnoteža inter- i intramolekulskog umrežavanja koje mogu da vode makrogeliranju. Da bi se ovom metodom dobili nanogelovi, potrebno je uspostaviti

ravnotežu između mrtvih lanaca, polimernih lanaca (aktivni ili lanci propagacije) i lanaca petlji koji se ponašaju kao dobri sterični stabilizatori. Reakcija polimerizacije se izvodi u razblaženom rastvoru, a vrednost parametra rastvorljivosti rastvarača (δ) je približno ista kao kod odgovarajućeg polimera.

Emulziona polimerizacija

Emulziona polimerizacija je široko rasprostranjena metoda za sintetisanje mikro- i nanogelova. Priprema nanogelova ovom metodom se vrši uz pomoć kapi rastvora monomera koje se dodaju u stabilnu emulziju (slika 2.3) u kojoj sistem sadrži molekule inicijatora koji proizvode slobodne radikale u tečnoj fazi (obično voda) kako bi se započela reakcija polimerizacije. Na ovaj način, polimerni lanci rastu u zaštitnim slojevima surfaktanata a zatim se okolni rastvarač uklanja isparavanjem, ekstrakcijom ili dijalizom. Korišćenjem ove metode, može se kontrolisati veličina gela ili nanočestica održavanjem veličine kapi u emulziji voda-ulje. Monofunkcionalni monomeri mogu dati polimerne nanočestice, pri čemu polifunkcionalni monomeri stvaraju unutrašnje umrežene polimere. Nanogelovi/mikrogelovi dobijeni ovom metodom su nekompatibilni sa biološkim makromolekulima. Da bi se postigla bolja kompatibilnost sa biomakromolekulima, emulzija voda-voda se može koristiti za pripremu nanočestica ili gelova, ali se teško kontroliše veličina gelova do nanoveličina.



Slika 2.3. Klasična tehnika emulziona polimerizacije za pripremu nanogelova.

Tehnike emulzione polimerizacije bez prisustva surfaktanata, mikroemulzione polimerizacije i inverzno emulzione polimerizacije su modifikovane metode emulzione polimerizacije kojima se mogu dobiti približno monodisperzni mikrogelovi. Ove metode se razlikuju u izboru pojedinih uslova, ali im je glavni princip isti kao kod emulzione polimerizacije.

Emulziona polimerizacija bez prisustva surfaktanata. Ovaj metod polimerizacije se izvodi sa monomerom, bez surfaktanata, a stvoreni polimerni lanci se ponašaju kao emulgatori.

Mikroemulziona polimerizacija. Ova metoda se bazira na kritičnoj koncentraciji emulgatora pri čemu su svi molekuli monomera prisutni u micelama, ali ne u formi kapi monomera i tako polimerizacija zapocinje pod tim uslovima.

Inverzno emulziona polimerizacija. Ova tehnika je suprotna emulzionoj polimerizaciji, a što znači da se polimerizacija hidrofilnih monomera sprovodi u organskoj hidrofobnoj fazi umesto u vodenoj fazi.

Suspenziona polimerizacija

Ova metoda je manje pogodna za sintezu nanogelova ili nanočestica. Priprema nanogelova se sastoji iz više različitih stupnjeva. Uobičajeno je da se koristi pogodan inicijator sa razblaženim sistemom monomera; umreživač je dispergovan mešanjem kako bi se dobili makromolekulski lanci. Ipak, kada ovi lanci dostignu kritičnu dužinu, oni pucaju i stvaraju prekursore čestica gela. Ove čestice nastavljaju da rastu zbog agregacije makromolekulskih lanaca. Čestice formirane na ovaj način imaju dobru koloidnu stabilnost. Međutim, najveći nedostatak kod ove tehnike su poteškoće u kontrolisanju veličina čestica zato što koloidna stabilnost zavisi od jedinjenja monomera, umreživača, inicijatora i temperature.

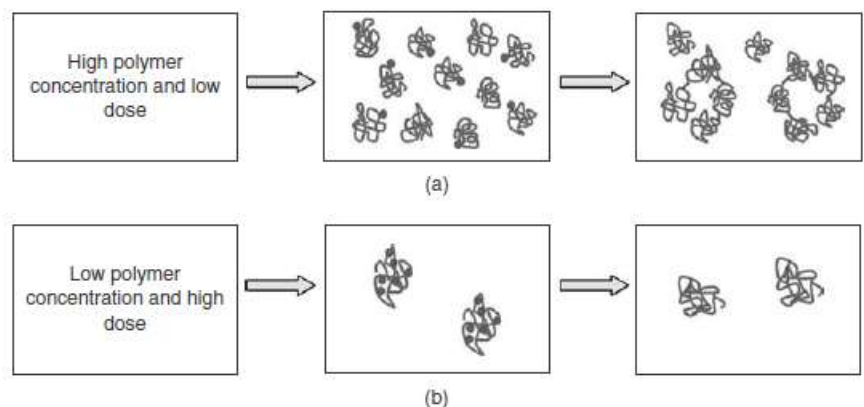
Metode nekonvencionalne polimerizacije

Dugo se smatralo da su metode konvencionalno simultanog umrežavanja polimera, praćene sa termičkom razgradnjom inicijatora koji daju fragmente (slobodne radikale), odgovorne za aktivaciju polimerizacije i naredne reakcije umrežavanja kako bi se dobila umrežena struktura nanogelova. Ovom tehnikom se dobijaju polimerni gelovi koji sadrže neproreagovale vrste (mada, u finalnom proizvodu mogu izazvati obrnuti efekat i predstavljati problem) uključujući i umreživač, inicijator, reaktivne intermedijare i surfaktante.

Alternativni načini polimerizacije umreživanjem kao što su UV polimerizacija, radijaciona polimerizacija, ultrazvučna/mikrotalasna polimerizacija su druge pogodne metode za dobijanje nanogelova. Polimerizacija pod dejstvom UV zraka se koristi za dobijanje visoko homogenih umreženih gelova. Prednost ove metode je ta da se koriste monofunkcionalni monomeri i foto inicijatori kako bi se dobili visoko umreženi polimeri.

2.3.2. Idealno intramolekulsko umrežavanje

Gelovi dobijeni hemijskim umrežavanjem moraju biti jako čistog sastava da bi zadovoljili tražene specifikacije Administracije za hranu i lekove. Uopšteno, vinil monomeri i umreživači/inicijatori su izuzetno toksični. Praktična primena umreženih hidrogelova/mikro i nanogelova u otpuštanju lekova je još uvek ograničena zbog problema sa čistoćom. Neke metode za dobijanje nanogelova su razvijene upotrebom radijacije/UV iradijacije. Za razliku od drugih metoda, na ovaj način nema problema sa uklanjanjem potencijalno štetnih supstanci kao što su neproreagovali monomer, inicijator, umreživač, stabilizatori, itd. od finalnih proizvoda. Sa ovom tehnikom se dobijaju nanogelovi sa različitim sastavom i lako je kontrolisati njihovu veličinu. Stvaranje nanogela (sposobnost polimera da se umreži) zavisi od funkcije hemijskog sastava polimera, koncentracije polimera, tipa iradijacije (pulsirajući u odnosu na kontinuirani) i brzina doze radijacije. Visoka doza pulsirajuće iradijacije veoma razblaženog polimernog rastvora dovodi do umrežavanja bez pojedinačnih polimernih lanaca i favorizuje stvaranje nanogelova. Niska doza pulsirajuće iradijacije stvara jako umrežene nanočestice gela (slika 2.4).



Slika 2.4. Radiacioni mehanizam za formiranje (a) mikrogela i (b) nanogela u masi.

2.3.3. Svodenje makroskopskih gelova na nano nivo

Postoji nekoliko metoda za pripremu mreža makrogelova, a lako se pripremaju iz razloga što nije potrebno kontrolisati sintetske parametre kao što je bilo potrebno kod nanogelova ili mikrogelova za kontrolu veličine. Makrogelovi se obično pripremaju polimerizacijom u masi, pri čemu se dobijaju čvrsti makroporozni gelovi. Zatim se ovi gelovi usitnjavaju mlevenjem (npr. kugličnim mlinovima), a zatim prosejavaju kako bi se dobili čestice željenih veličina. Međutim, ovo je proces koji troši vreme i energiju i kao rezultat daje značajan gubitak materijala. Pored toga, mikro- i nanogelovi dobijeni ovom metodom su čestice različitog oblika i veličine.

2.4. Svojstva nanogelova

Karakteristika nanogelova je njihovo bubrenje u vodenoj sredini. Stepenn bubrenja i pogonske sile nanogelova/mikrogelova su analogne makrogelovima, ali je njihova najveća prednost brzo bubrenje/kontraktcija. Nanogelovi imaju veću dodirnu površinu od makrogelova. Različita svojstva mikrogelova/nanogelova su veličina čestica, mogućnost bubrenja, elektromobilnost, koloidna stabilnost, itd. Na ova svojstva mikrogelova/nanogelova jako utiču temperatura, prisustvo hidrofilnih/hidrofobnih grupa u polimernim mrežama, gustina umrežavanja gelova, koncentracija surfaktanata i tip umrežavanja prisutan u mrežama polimera.

Svojstva čestica nanogelova zavise od prirode monomernih jedinica prisutnih u polimernim lancima mreža gela. Ove funkcionalne grupe imaju ogroman efekat na svojstva nošenja i otpuštanja lekova, i neke funkcionalne grupe se mogu spajati sa lekovima/antitelima za ciljanu primenu.

Mreže nano- i mikrogela sastoje se od jedinica koje se ponavljaju kao što su *N*-isopropilakrilamid, *N*-isopropilmetakrilamid (NIPMAM), *N*-dietilakrilamid (NDEAM), *N*-vinilisobutaramid (NVIBAM), *N*-acriloilpirolidin (NAP), i *N*-vinilkaprolaktam (NVCL) su poznati sintetski termosenzitivni vodeni sistemi.

Svojstva nanogelova zavise i od pH vrednosti. Za mikro- i nanogelove koji sadrže hidrofobne/hidrofilne pH zavisne jedinice koje se ponavljaju ili mreže, smatra se da imaju bolje nosače (prenosioce) lekova.

Jezgra omotača nanogelova imaju unutar strukture mreže gela polimerne lance koji reaguju na temperaturu i pH.

Kao što je gore pomenuto, najuspešnije metode dobijanja nanogelova se baziraju na emulzionoj polimerizaciji pri čemu je neophodna upotreba surfaktanata. Uočene su jake interakcije između čestica gela i jonskih surfaktanata, ali nema interakcija sa nejonskim surfaktantima. Interakcije vodenih surfaktanata variraju sa dužinom lanca. Anjonski surfaktanti imaju veći efekat na makrogelove od katjonskih surfaktanata. Veza surfaktanta sa nanogelovima/mikrogelovima zavisi od sposobnosti bubrenja nanogela/mikrogela.

Literatura:

1. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:3–12.
2. Peppas NA. Hydrogels in Medicine and Pharmacy, *Vol. 1. Fundamentals*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1986.
3. Tanaka Y, Gong JP, Osada Y. Novel hydrogels with excellent mechanical performance. *Prog Polym Sci* 2005;30:1–9.

4. Ogawa K, Nakayama A, Kokufuta E. Preparation and characterization of thermosensitive polyampholyte nanogels. *Langmuir* 2003;19:3178–3184.
5. M. Kalagasidis Krušić, Hidrogelovi I kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2007.
6. Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm* 2000;50:27–46.
7. Kayser O, Lemke A, Hern'andez-Trejo N. The impact of nanobiotechnology on the development of new drug delivery systems. *Curr Pharm Biotech* 2005;6:3–5.
8. Zhu J, Li P. Synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate)/casein nanoparticles with a well-defined core-shell structure. *J Polym Sci Part A: Polym Chem* 2003;41:3346–3353.
9. Sahiner N, Godbey WT, McPherson GL, John VT. Microgel, nanogel and hydrogel–hydrogel semi-IPN composites for biomedical applications: Synthesis and characterization. *Colloid Polym Sci* 2006;284:1121–1129.

Pitanja

1. Šta su hidrogelovi?
2. Koje su metode sinteze hidrogelova?
3. Podela hidrogelova.
4. Nabrojati monomere i polimere koji se mogu koristiti za dobijanje hidrogelova.
5. Strukturni parametri hidrogelova.
6. Mehanička svojstva hidrogelova.
7. Difuzija u hidrogelovima.
8. Primene hidrogelova.
9. Šta su nanogelovi.
10. Koje su metode sinteze nanogelova?
11. Podela nanogelova.
12. Koja je metoda najpogodnija za dobijanje nanogelova?
13. Svojstva nanogelova.
14. Primena nanogelova.