



UNIVERZITET U NIŠU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET U LESKOVCU



**Maja Z. Urošević**

**Sinteza i karakterizacija kopolimernih  
hidrogelova na bazi *N*-izopropilmetakrilamida i  
*N*-izopropilakrilamida za formulacije sa  
kurkuminom**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Leskovac, 2024.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF TECHNOLOGY IN LESKOVAC



**Maja Z. Urošević**

**Synthesis and characterization of copolymer  
hydrogels based on *N*-isopropylmethacrylamide  
and *N*-isopropylacrylamide for curcumin  
formulations**

DOCTORAL DISSERTATION

Leskovac, 2024.

**MENTOR:**

Prof. dr Ljubiša Nikolić, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Tehnološki fakultet u Leskovcu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

Prof. dr Suzana Cakić, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Tehnološki fakultet u Leskovcu

Prof. dr Vesna Nikolić, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Tehnološki fakultet u Leskovcu

Dr Ivan Ristić, vanredni profesor

Univerzitet u Novom Sadu

Tehnološki fakultet Novi Sad

Dr Vesna Savić, vanredni profesor

Univerzitet u Nišu

Medicinski fakultet Niš

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

## Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor: prof. dr Ljubiša Nikolić, redovni profesor  
Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu

Naslov: Sinteza i karakterizacija kopolimernih hidrogelova na bazi *N*-izopropilmetakrilamida i *N*-izopropilakrilamida za formulacije sa kurkuminom

Rezime: Cilj doktorske disertacije bio je razvoj novog matriks sistema na bazi smart polimernog nosača sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin da bi se povećala rastvorljivost kurkumina i postiglo njegovo modifikovano oslobađanje. U tu svrhu sintetisane su serije termoosetljivih hidrogelova na bazi monomera *N*-izopropilmetakrilamida i *N*-izopropilakrilamida slobodno-radikalskom polimerizacijom sa različitim sadržajem monomera i umreživača. Urađena je karakterizacija sintetisanih hidrogelova primenom FTIR, XRD, SEM i DSC metode. Primenom HPLC metode određen je sadržaj neproreagovanih monomera. Step en i brzina bubrenja hidrogelova u zavisnosti od temperature, sadržaja monomera i umreživača određeni su gravimetrijski. Ispitana je kinetika bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova, a centralni kompozitni dizajn je primenjen kao matematički model za opisivanje procesa ravnotežnog bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova u zavisnosti od sastava kopolimera i temperature okolnog medijuma. Pripremljen je inkluzioni kompleks kurkumina sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom u cilju povećanja rastvorljivosti kurkumina i okarakterisan FTIR, SEM, XRD, DSC i <sup>1</sup>H-NMR metodom. Primjenjene metode karakterizacije potvrdile su inkorporiranje kurkumina u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina a fazna rastvorljivosti je pokazala da se rastvorljivost kurkumina u vodi pri tom povećava. Povećana antioksidativna i antimikrobna aktivnost kurkumina u inkluzionom kompleksu posledica je njegove povećane rastvorljivosti u vodi. Ispitan je uticaj kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina na teksturne karakteristike Karbopol<sup>®</sup> gela tokom vremena. Rezultati teksturne analize pokazuju da kurkumin i kurkumin u inkluzionom kompleksu ne dovode do statistički značajnih promena teksturnih parametara Karbopol<sup>®</sup> gela u periodu od 14 dana što ukazuje na fizičku stabilnost formulacija. Inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin uklopljen je u sintetisane i okarakterisane p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelove. Karakterizacija sintetisanih hidrogelova sa uklopljenim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin urađena je primenom FTIR, XRD, SEM i DSC metoda pri čemu je potvrđeno prisustvo kurkumina u hidrogelove. Sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelovi obezbeđuju produženo oslobađanje kurkumina. Korsmeyer-Peppas-ov model najbolje opisuje oslobađanje kurkumina iz matriks sistema, dok je mehanizam oslobađanja kurkumina zasnovan na difuziji iz polimerne matrice hidrogelova.

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast:	Hemija i hemijske tehnologije
Ključne reči:	<i>N</i> -izopropilmetakrilamid, <i>N</i> -izopropilakrilamid, hidrogelovi, kurkumin, inkluzioni kompleks, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin
UDK:	678.744 – 13 : 547.979.4 (043.3)
CERIF klasifikacija:	T 390 Tehnologija polimera, biopolimeri
Tip licence Kreativne zajednice:	<b>CC BY-NC-ND</b>

## Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	prof. dr Ljubiša Nikolić, professor Faculty of Technology in Leskovac, University of Niš
Title:	Synthesis and characterization of copolymer hydrogels based on <i>N</i> -isopropylmethacrylamide and <i>N</i> -isopropylacrylamide for curcumin formulations
Abstract:	<p>The aim of the doctoral dissertation was the development of a new matrix system based on a smart polymer carrier with an incorporated curcumin:2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin inclusion complex to increase the solubility of curcumin and achieve its modified release.</p> <p>For this purpose, series of thermosensitive hydrogels based on <i>N</i>-isopropylmethacrylamide and <i>N</i>-isopropylacrylamide monomers were synthesized by free-radical polymerization with a different content of monomers and crosslinker. The characterization of the synthesized hydrogels was performed using the FTIR, XRD, SEM and DSC methods. The content of unreacted monomers was determined using the HPLC method.</p> <p>The degree and rate of swelling of hydrogels depending on the temperature, monomer content and crosslinker were determined gravimetrically. The swelling kinetics of p(NiPMAM-co-NiPAM) hydrogels was investigated, and the central composite design was applied as a mathematical model to describe the equilibrium swelling process of p(NiPMAM-co-NiPAM) hydrogels depending on the composition of the copolymer and the temperature of the surrounding medium.</p> <p>An inclusion complex of curcumin with 2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin was prepared in order to increase the solubility of curcumin and characterized by FTIR, SEM, XRD, DSC and <sup>1</sup>H-NMR methods. The applied characterization methods confirmed the incorporation of curcumin into the cavity of 2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin, and the solubility phase showed that the solubility of curcumin in water increases. An increased antioxidant and antimicrobial activity of curcumin in the inclusion complex is a consequence of its increased solubility in water. The influence of curcumin and the curcumin:2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin inclusion complex on the textural characteristics of Carbopol<sup>®</sup> gel was investigated over the course of time. The results of the textural analysis show that curcumin and curcumin in the inclusion complex do not lead to statistically significant changes in the textural parameters of Carbopol<sup>®</sup> gel over a 14-day period, which indicates the physical stability of the formulations.</p> <p>The curcumin:2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin inclusion complex was incorporated into the synthesized and characterized p(NiPMAM-co-NiPAM) hydrogels. The characterization of the synthesized hydrogels with the curcumin:2-hydroxypropyl-<math>\beta</math>-cyclodextrin inclusion complex was performed using the FTIR, XRD, SEM and DSC methods, where the presence of curcumin in the hydrogels was confirmed. The synthesized p(NiPMAM-co-NiPAM) hydrogels provide a sustained release of curcumin. The Korsmeyer-Peppas model best describes the release of curcumin from the matrix system, while the mechanism of curcumin</p>

release is based on the diffusion from the polymer matrix of hydrogels.

Scientific Field: Technological engineering

Scientific Discipline: Chemistry and chemical technology

Key Words: *N*-isopropylmethacrylamide, *N*-isopropylacrylamide, hydrogels, curcumin, inclusion complex, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

UDC: 678.744 – 13 : 547.979.4 (043.3)

CERIF Classification: T 390 Polymer technology, biopolymers

Creative Commons License Type: **CC BY-NC-ND**

## **IZRAZI ZAHVALNOSTI**

*Doktorska disertacija pod nazivom "Sinteza i karakterizacija kopolimernih hidrogelova na bazi N-izopropilmetakrilamida i N-izopropilakrilamida za formulacije sa kurkuminom" rezultat je istraživanja koje finansira Ministarstvo nauke, tehnološkog razvoja i inovacija.*

*Pre svega želim da kažem da je čast i privilegija poznavati osobu kao što je moj mentor prof. dr Ljubiša Nikolić, redovni profesor (Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu).*

*Poštovani mentore, zahvaljujem Vam se što ste svih ovih godina bili nepresušni izvor davanja i podrška u svakom smislu te reči. Hvala Vam na dugogodišnjem zalaganju, posvećenosti, podršci, nesebičnom prenošenju znanja, veština i iskustva. Hvala Vam što ste ličnim primerom pokazali da se autoritet i poštovanje stiču isključivo korektnim i poštenim odnosom prema drugim ljudima. Hvala za sve usađene istinske vrednosti tokom ovih godina saradnje. Hvala Vam što ste prihvatili da budete moj mentor i sve vreme vodili i nadgledali izradu ove doktorske disertacije. Hvala za učešće u rešavanju svih problema u eksperimentalnom radu i obradi rezultata. Hvala na svemu!*

*Prof. dr Vesni Nikolić, redovnom profesoru (Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu) dugujem ogromnu zahvalnost za angažovanje i uloženi trud u toku izrade ove doktorske disertacije. Poštovana profesorka, hvala što ste me prihvatili da budem deo Vašeg istraživačkog tima. Hvala što ste verovali u mene sve ovo vreme, što ste me bodrili u teškim trenucima, podržavali i inspirisali. Hvala Vam za sve ideje, predloge, sugestije, strpljenje kao i na vremenu koje ste posvetili meni!*

*Zahvaljujem se prof. dr Suzani Cakić, redovnom profesoru (Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu) na korisnim sugestijama i stručnim komentarima koji su doprineli boljem kvalitetu disertacije.*

*Veliko hvala dr Ivanu Ristiću, vanrednom profesoru (Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu) na dragocenoj pomoći u DSC analizi, korisnim sugestijama i predlozima. Hvala Vam za dragoceno iskustvo koje ste mi preneli u ovoj oblasti.*

*Dr Vesni Savić, vanrednom profesoru (Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu) i njenoj saradnici Milici Martinović dugujem veliku zahvalnost za urađenu teksturnu analizu, dragocene savete u ovoj oblasti, na trudu i vremenu koje su posvetile meni.*

*SEM analiza urađena je na Medicinskom fakultetu u Nišu i koristim priliku da se zahvalim osoblju i prof. dr Stevi Najmanu, redovnom profesoru koji su mi omogućili pristup uređaju i uputili korisne sugestije u ovoj analizi.*



*Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Tatjani Mihajilov Krstev (Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu) koja mi je omogućila pristup u laboratorijama za antimikrobna ispitivanja. Hvala Vam na trudu i vremenu koje ste utrošili za mene.*

*XRD i NMR ispitivanja urađena su na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu. Ova ispitivanja omogućili su mi prof. dr Srđan Rakić i prof. dr Mirjana Popsavin i koristim priliku da im se od srca zahvalim za utrošeno vreme i sugestije koje su mi uputili u toku rada.*

*Prof. dr Ljiljani Stanojević, redovnom profesoru (Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu) i koleginci Aleksandri Milenković iskrena zahvalnost za pomoć pri određivanju antioksidativne aktivnosti.*

*Kolegi Aleksandru Zdravkoviću se zahvaljujem na izdvojenom vremenu i trudu koji je uložio kako bi doprineo da disertacija dobije ovakav oblik.*

*Od srca se zahvaljujem svojim kolegincama Ivani Gajić i Ani Dinić na divnoj saradnji, izdvojenom vremenu, trudu i radu u toku izrade ove disertacije.*

*Na kraju, veliko hvala mojoj porodici na razumevanju, strpljenju i podršci svih ovih godina.*

## LISTA VAŽNIH SKRAĆENICA

AFM	mikroskopija atomskih sila
ATR-FTIR	infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom- prigušena totalna refleksija
AZDN	2,2'-azobis(2-metilpropionitril)
BIS	<i>N,N'</i> -metilenebisakrilamid
<i>D</i>	koeficijent difuzije
DDOPBA	4-(1,6-diokso-2,5-diaza-7-oksamil) fenilboronska kiselina
DPPH	1,1-difenil-2-pikril hidrazil
DSC	diferencijalna skenirajuća kalorimetrija
FTIR	infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom
<sup>1</sup> H-NMR	protonska nuklearna magnetna rezonanca
HPLC	tečna hromatografija visokih performansi
IPN	interpenetrirajuće mreže
LCST	donja kritična temperatura rastvora
MIC	minimalna inhibitorna koncentracija
p(AA)	poli(akrilna kiselina)
PEG200	polietilen glikol male molekulske mase
PLGA	poli(laktid- <i>ko</i> -glikolid)
p(MAA)	poli(metakrilna kiselina)
p(NiPAm)	poli( <i>N</i> -izopropilakrilamid)
p(NiPMAm)	poli( <i>N</i> -izopropilmetakrilamid)
p(NiPMAm- <i>ko</i> -NiPAm)	poli( <i>N</i> -izopropilmetakrilamid- <i>ko</i> - <i>N</i> -izopropilakrilamid)
p(NnPAM)	poli( <i>N-n</i> -propilakrilamid)
SANS	metoda rasipanja zraka neutrona pod malim uglom
SEM	skenirajuća elektronska mikroskopija
SZO	svetska zdravstvena organizacija
UV-Vis	spektrofotometrija u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti
VPTT	temperatura zapreminskog faznog prelaza
XRD	difrakcija X-zraka
$\alpha_t$	stepen bubrenja u trenutku vremena <i>t</i>
$\alpha_e$	ravnotežni stepen bubrenja

# SADRŽAJ

1 UVOD.....	1
2 TEORIJSKI DEO.....	4
2.1 Hidrogelovi.....	4
2.1.1 Termoosetljivi hidrogelovi.....	8
2.1.2 Homopolimer poli( <i>N</i> -izopropilmetakrilamid), p(NiPMAm).....	10
2.1.3 Homopolimer poli( <i>N</i> -izopropilakrilamid), p(NiPAm).....	13
2.1.4 Kopolimer na bazi NiPMAm-a i NiPAm-a, p(NiPMAm-ko-NiPAm).....	15
2.1.5 Postupci za dobijanje kopolimera na bazi NiPMAm-a i NiPAm-a.....	16
2.1.6 Karakterizacija kopolimera na bazi NiPMAm-a i NiPAm-a.....	17
2.1.7 Primena hidrogelova na bazi NiPMAm-a i NiPAm-a.....	18
2.2 Ciklodekstrini i inkluzioni kompleksi.....	21
2.2.1 Struktura, fizičko-hemijske osobine, stabilnost i primena ciklodekstrina.....	21
2.2.2 Inkluzioni kompleksi.....	24
2.2.3 Tehnike izrade inkluzionih kompleksa.....	25
2.2.4 Stabilnost inkluzionih kompleksa - dijagram fazne rastvorljivosti.....	25
2.2.5 Oslobođanje leka iz kompleksa.....	27
2.3 Kurkumin.....	28
2.3.1 Struktura, bioraspoloživost i sigurnost primene kurkumina.....	29
2.3.2 Primena formulacija kurkumina.....	30
2.3.3 Farmakološke aktivnosti kurkumina.....	33
2.3.3.1 Antibakterijska aktivnost.....	33
2.3.3.2 Antivirusna aktivnost.....	33
2.3.3.3 Antiinflamatorna aktivnost.....	35
2.3.3.4 Antioksidativna aktivnost.....	35
3 EKSPERIMENTALNI DEO.....	37
3.1 Reagensi i materijali.....	37
3.2 Metode sinteze i pripreme sistema sa kurkuminom.....	38
3.2.1 Sinteza p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova.....	38
3.2.2 Priprema inkluzionog kompleksa i fizičke smeše sa kurkuminom.....	39
3.2.2.1 Priprema inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.....	39
3.2.2.2 Priprema fizičke smeše.....	39
3.2.3 Priprema matriks sistema - inkorporiranje kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u sintetisane hidrogelove.....	39
3.2.4 Priprema hidrofilnog Karbopol <sup>®</sup> gela sa kurkuminom i inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom.....	40
3.2.5 Oslobođanje kurkumina iz matriks sistema.....	41
3.3 Metode analize i karakterizacije.....	42
3.3.1 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR).....	42
3.3.2 Liofilizacija.....	42
3.3.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM).....	43
3.3.4 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC).....	43
3.3.5 Difrakcija X-zraka (XRD).....	43
3.3.6 Određivanje koncentracije rezidualnih jedinjenja i kurkumina pomoću tečne hromatografije visokih performansi (HPLC).....	44
3.3.7 Bubrenje hidrogelova.....	44
3.3.7.1 Modelovanje procesa bubrenja eksperimentalnim dizajnom.....	45
3.3.8 Nuklearna magnetna rezonanca ( <sup>1</sup> H-NMR).....	47
3.3.9 Spektrofotometrija u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti (UV-Vis).....	47

3.3.10 Fazna rastvorljivost .....	47
3.3.11 Antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.....	48
3.3.11.1 DPPH test.....	48
3.3.11.2 ABTS test.....	49
3.3.11.3 FRAP test .....	49
3.3.12 Antimikrobna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.....	50
3.3.13 Analiza teksture Karbopol <sup>®</sup> gela sa kurkuminom i inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom .....	52
4 REZULTATI I DISKUSIJA .....	53
4.1 Sinteza p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova.....	53
4.1.1 FTIR analiza.....	54
4.1.2. SEM analiza .....	60
4.1.3 XRD analiza .....	62
4.1.4 DSC analiza.....	63
4.1.5 HPLC analiza rezidualnih reaktanata.....	64
4.1.6 Bubrenje .....	67
4.1.6.1 Uticaj pH vrednosti medijuma i sadržaja umreživača na stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova.....	67
4.1.6.2 Uticaj temperature na bubrenje p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova ....	73
4.1.6.3 Modelovanje procesa bubrenja hidrogelova.....	76
4.2 Inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.....	81
4.2.1 FTIR analiza.....	81
4.2.2 <sup>1</sup> H-NMR analiza.....	84
4.2.3 SEM analiza .....	86
4.2.4 XRD analiza .....	87
4.2.5 DSC analiza.....	88
4.2.6 Fazna rastvorljivost.....	90
4.2.7 Antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.....	91
4.2.7.1 DPPH test.....	91
4.2.7.2 ABTS test.....	92
4.2.7.3 FRAP test.....	93
4.2.8 Antimikrobna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.....	94
4.2.9 Analiza teksture.....	95
4.3 P(NiPMAM-ko-NiPAM) kao nosač inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.....	100
4.3.1 Inkorporiranje kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u sintetisane p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelove .....	100
4.3.2 FTIR analiza.....	101
4.3.3 SEM analiza .....	106
4.3.4 XRD analiza .....	107
4.3.5 DSC analiza.....	108
4.3.6 <i>In vitro</i> oslobađanje kurkumina iz p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova ...	109
5 ZAKLJUČAK .....	114
6 LITERATURA .....	116
PRILOZI .....	142
Prilog 1. FTIR analiza sintetisanih hidrogelova .....	142

Prilog 2. HPLC analiza rezidualnih reaktanata .....	146
Prilog 3. Uticaj pH vrednosti medijuma, temperature i sadržaja umreživača na stepen bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova .....	147
Prilog 4. Modelovanje procesa bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 7,4 i 8.....	158
BIOGRAFIJA .....	162
BIBLIOGRAFIJA.....	163

# 1 UVOD

Od početka ljudske civilizacije biljke i prirodni proizvodi su se koristili za prevenciju i ublažavanje raznih bolesti. Međutim, poslednjih decenija širom sveta interesovanje za biljne preparate sa lekovitim dejstvom značajno je povećano. Imperativ današnjice je zamena sintetičkih lekova čija dugoročna primena pored korisnih dejstava izaziva mnoge neželjene efekte, prirodnim i bezbednim biljnim lekovima, za lečenje različitih hroničnih i akutnih bolesti. Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), 60% svetske populacije oslanja se na prirodnu medicinu, a oko 80% stanovništva u zemljama u razvoju skoro u potpunosti koristi prirodnu medicinu za potrebe primarne zdravstvene zaštite. Istraživanja pokazuju da se u zemljama sa drevnim civilizacijama poput Indije, Kine, Južne Amerike i Egipta lekovi na bazi biljaka uspešno koriste za lečenje kožnih bolesti, dijabetesa, hipertenzije, kancera, side i mnogih drugih infektivnih bolesti (Khan i Ahmad, 2019; El-Saadony i sar., 2023). Prema SZO biljni lekovi obuhvataju "bilje, biljne materijale, biljne preparate i gotove biljne proizvode, koji kao aktivne sastojke sadrže delove biljaka, ili druge biljne materijale ili pak kombinacije" (SZO, 2023). Učestalost bakterijskih infekcija i pojava rezistencije na postojeće lekove, kao i nemogućnost odabira specifičnog leka za lečenje čestih i dugih virusnih bolesti ukazuju da će fitojedinjenja i njihovi hemijski analozi postati antibakterijske i antivirusne alternative sledeće generacije. Farmakološko dejstvo uglavnom ispoljavaju sekundarni metaboliti biljaka (fenoli, tanini, flavonoidi, alkaloidi), pojedinačno ili u sinergiji sa drugim jedinjenjima (Khan i Ahmad, 2019; El-Saadony i sar., 2023). Međutim, veliki broj aktivnih biljnih sastojaka ima slabu rastvorljivost u vodi, što dovodi do njihove niske bioraspoloživosti i svrstava ih u drugu grupu biofarmaceutskog klasifikacionog sistema (Samineni i sar., 2022). Poboljšanje rastvorljivosti i povećanje efikasnosti aktivnih sastojaka postiže se razvojem novih pristupa i strategija za izradu formulacija sa savremenim nosačima (Sarangi i Padhi, 2018). U ove svrhe u literaturi su opisane formulacije koje uključuju nanočestice, liposome, micle, fosfolipidne, ciklodekstrinske komplekse i hidrogelove kao nosače. Primenom sistema za kontrolisanu isporuku farmakološki aktivnih supstanci povećava se njihova rastvorljivost, bioraspoloživost, stabilnost i omogućava selektivna isporuka unapred definisanom brzinom i mehanizmom do specifičnih organa/tkiva/ćelija što predstavlja značajnu prednost u odnosu na konvencionalnu terapiju. Regulacija oslobađanja aktivne supstance omogućava održavanje njene koncentracije u plazmi unutar terapijskog okvira sa minimalnim neželjenim efektima (Adepu i Ramakrishna, 2021).

Istraživanja pokazuju da se za izradu sistema za kontrolisanu isporuku farmakološki aktivnih supstanci poslednjih decenija intenzivno koriste polimerni materijali. Zahvaljujući inovacijama u oblasti polimera i svojstvima ovih pametnih materijala (biodegradabilnost, biokompatibilnost, bubrenje/kontrahovanje u zavisnosti od okolnog medijuma) moguće je kreirati inteligentni sistem za kontrolisano oslobađanje farmakološki aktivne supstance sa unapred određenim, podesivim dozama tokom dužeg vremenskog perioda čime se minimizira učestalost primene leka (Aghabegi Moghanjoughi i sar., 2016).

Kurkumin, fito-sastojak rizoma biljke *Curcuma longa*, privukao je pažnju naučnika i u fokusu istraživanja je poslednjih godina (Gupta i sar., 2010). On je lipofilni molekul male molekulske mase koji lako prolazi kroz ćelijsku membranu (Toden i Goel, 2017). Po hemijskoj strukturi je polifenol (Farid, 2016). Koristi se kao prirodno sredstvo za bojenje hrane i u medicinske svrhe hiljadama godina (Gupta i sar., 2010; Gupta i sar., 2012). Kurkumin ispoljava antiinflamatorno, hipoglikemijsko, antioksidativno, antimikrobno, antivirusno, antikancerogeno, neurotrofično i mnoga druga dejstva (Gupta i sar., 2012; Kunnumakkara i sar., 2017). Međutim, glavna prepreka za farmakološku aktivnost kurkumina je njegova slaba rastvorljivost u vodi i niska bioraspoloživost (Hewlings i Kalman, 2017; Jamwal, 2018; Purpura i sar., 2018). Glavni faktori koji doprinose niskoj bioraspoloživosti kurkumina u krvnoj plazmi i tkivima su njegova slaba apsorpcija, brzi metabolizam i brza sistemska eliminacija (Jäger i sar., 2014). Poboljšanje rastvorljivosti i bioraspoloživosti ovog obećavajućeg molekula je presudna za dalji pregled potencijalne kliničke primene. Različiti pristupi u izradi formulacija kurkumina mogu poboljšati njegove fizičko-hemijske karakteristike i omogućiti bezbednu i efikasnu primenu (Jamwal, 2018; Zheng i McClements, 2020).

U cilju povećanja rastvorljivosti, a time i bioraspoloživosti kurkumina razvijen je novi matriks sistem na bazi smart polimernog nosača umreženog poli(*N*-izopropilmetakrilamid-*ko*-*N*-izopropilakrilamida) sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.

Ciljevi ove doktorske disertacije su:

- Sinteza termoosetljivih hidrogelova na bazi monomera *N*-izopropilmetakrilamida i *N*-izopropilakrilamida, uz primenu etilen glikol dimetakrilata kao umreživača i odgovarajućeg inicijatora.
- Karakterizacija sintetisanih hidrogelova različitim spektroskopskim metodama.
- Ispitivanje stepena i brzine bubrenja hidrogelova u zavisnosti od sadržaja monomera i sadržaja umreživača.
- Ispitivanje kinetike i kapaciteta bubrenja hidrogelova na različitim temperaturama i pH-vrednostima medijuma. Modelovanje ravnotežnog procesa bubrenja hidrogelova u zavisnosti od temperature i sastava kopolimera primenom centralnog kompozitnog dizajna.
- Priprema i karakterizacija inkluzionog kompleksa kurkumina sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom, u cilju povećanja rastvorljivosti kurkumina.
- Ispitivanje antioksidativne i antimikrobne aktivnosti kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu.
- Ispitivanje uticaja kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu na teksturne karakteristike Karbopol<sup>®</sup> gela.
- Uklapanje inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u sintetisane hidrogelove.
- Karakterizacija sintetisanih hidrogelova sa uklopljenim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.
- Ispitivanje kinetike otpuštanja kurkumina iz sintetisanih hidrogelova na povišenoj temperaturi pri pH-vrednosti koja odgovara pH-vrednosti tankog creva.



## 2 TEORIJSKI DEO

### 2.1 Hidrogelovi

Hidrogelovi su trodimenzionalne mreže hidrofilnih polimera sa velikim afinitetom prema vodi i vodenim rastvorima. U vodi i biološkim tečnostima se ne rastvaraju već bubre zahvaljujući hemijski ili fizički umreženim polimernim lancima. Poseduju visok stepen fleksibilnosti i vrlo su slični biološkom tkivu zbog visokog sadržaja vode, konzistencije i biokompatibilnosti. Hemijsko ili fizičko umrežavanje prirodnih ili sintetičkih polimernih lanaca može se koristiti za dizajniranje željene strukture hidrogelova. Hemijski umreženi hidrogelovi nastaju povezivanjem polimernih lanaca jakim kovalentnim interakcijama agensima za umrežavanje. Hemijskim umrežavanjem dobijaju se hidrogelovi koji pokazuju poboljšanu stabilnost u fiziološkim uslovima i bolje mehaničke osobine, u poređenju sa fizički umreženim hidrogelovima. Kod fizički umreženih hidrogelova polimerni lanci povezani su fizičkim interakcijama, poput jonskih i hidrofobnih interakcija, vodoničnih veza itd. (Peppas i sar., 2000; Caló i Khutoryanskiy, 2015; Hu i sar., 2019; Ho i sar., 2022). Međutim, bez obzira na postupak dobijanje hidrogelova njihova osnovna karakteristika je bubrenje. Prvi korak u procesu bubrenja je difuzija molekula vode u mrežu hidrogela pri čemu dolazi do hidratacije hidrofilnih grupa ("primarno vezana voda"). Relaksacija polimernih lanaca predstavlja drugi korak u procesu bubrenja i obuhvata hidrataciju hidrofobnih grupa ("sekundarno vezana voda"). Poslednji, treći korak u procesu bubrenja hidrogelova je širenje mreže hidrogela koje nastaje usled dalje penetracije molekula vode ("slobodna voda"). Na bubrenje hidrogelova utiču svojstva polimera koji ulaze u sastav hidrogelova (gustina umrežavanja, hidrofilnost, hidrofobnost, koncentracija itd.) i svojstva medijuma za bubrenje (Buenger i sar., 2012; Bashir i sar., 2020).

Stepen bubrenja ( $\alpha_t$ ) hidrogelova izračunava se primenom jednačine 1 kojom je definisan odnos mase apsorbovane tečnosti i mase suvog gela:

$$\alpha_t = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (1)$$

gde je:  $m_0$  – masa suvog gela, a  $m_t$  – masa nabubrelog gela u vremenu  $t$ .

U cilju određivanja prirode procesa difuzije fluida u hidrogelove primenjuje se jednačina 2 koja važi za početnu fazu bubrenja tj. za prvih 60% bubrenja (Ritger i Peppas, 1987; Bajpai, 2001):

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

gde su  $F$ -frakciona sorpcija,  $M_t$ -masa apsorbovanog rastvarača u trenutku  $t$ ,  $M_e$ -masa apsorbovanog rastvarača u stanju ravnoteže,  $k$ -konstanta karakteristična za određenu vrstu polimerne mreže ( $\text{min}^{1/n}$ ) i  $n$ -difuzioni eksponent.

Vrednosti kinetičkih parametara  $k$  i  $n$  određuju se iz odsečka i nagiba pravolinijske zavisnosti između  $\ln(M_t/M_e)$  i  $(\ln t)$  (jednačina 3) koja se dobija logaritmovanjem jednačine 2.

$$\ln F = \ln(M_t / M_e) = \ln k + n \ln t \quad (3)$$

U tabeli 1 prikazane su vrednosti difuzionog eksponenta  $n$  koje određuju mehanizam difuzije fluida u hidrogelove (Wang i sar., 2008; Hansen, 2010).

Tabela 1. Mehanizam difuzije fluida u hidrogelove u zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta,  $n$

Vrednost difuzionog eksponenta ( $n$ )	Tip transporta fluida u hidrogelove
$n=0,5$	Brzina transporta rastvarača u gel manja je od brzine relaksacije polimernih lanaca. Mehanizam difuzije fluida odgovara Fick-ovom mehanizmu difuzije (Slučaj I).
$n<0,5$	Penetracija rastvarača znatno je sporija od relaksacije polimernih lanaca. Mehanizam transporta rastvarača pripada Fick-ovoj difuziji. Anomalni mehanizam difuzije (ne-Fick-ova difuzija) se javlja kada
$0,5<n<1$	bubrenje hidrogelova kontrolišu i difuzija rastvarača u matriks i relaksacija polimernih lanaca.
$n=1$	Proces difuzije rastvarača je mnogo brži od relaksacije polimernih lanaca u gelu (Tip II, Slučaj II).
$n>1$	Relaksacija polimernih lanaca kontrolišu bubrenje hidrogelova, tip III (Slučaj III, Super Slučaj II).

Primenom jednačine 4 koja takođe uzima u obzir samo početnu fazu bubrenja (60% bubrenja) i tokom koje debljina polimera ostaje približno konstantna određuje se koeficijent difuzije fluida u hidrogel ( $D$ ) (Wang i sar., 2008; Hansen, 2010):

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

gde  $D$  predstavlja koeficijent difuzije ( $\text{cm}^2/\text{min}$ ), a  $l$  debljinu suvog hidrogela, kserogela (cm).

Koeficijent difuzije  $D$  se izračunava iz odsečka pravolinijske zavisnosti između  $\ln(M_t/M_e)$  i  $\ln t$  (jednačina 5) koja se dobija logaritmovanjem jednačine 4.

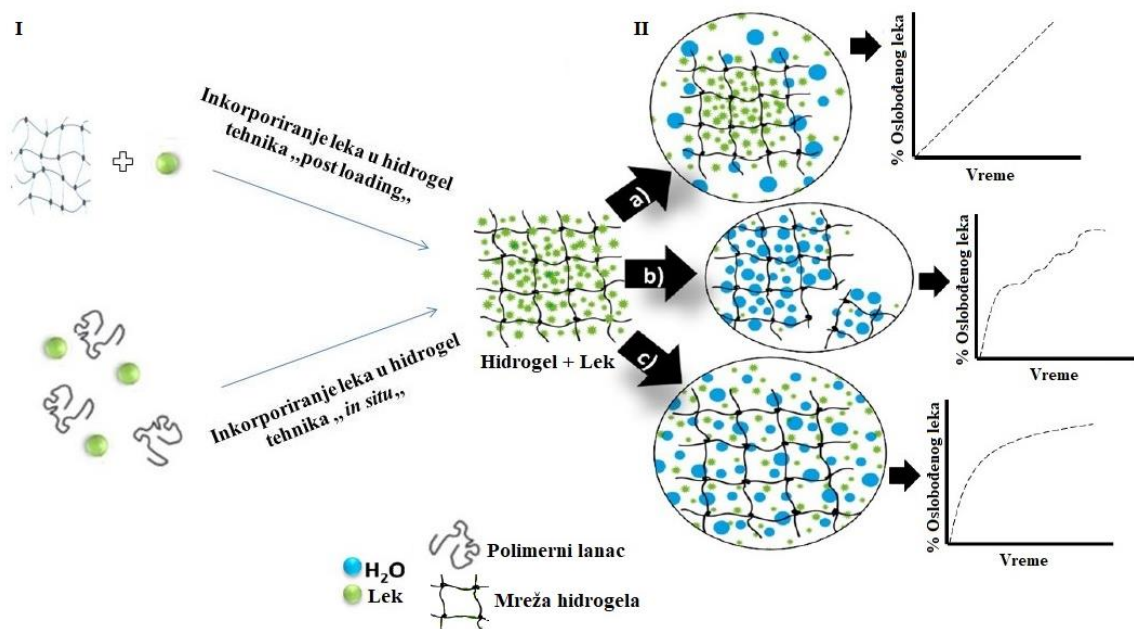
$$\ln\left(\frac{M_t}{M_e}\right) = \ln\left(\frac{4D^{1/2}}{\pi^{1/2}l}\right) + \frac{1}{2} \ln t \quad (5)$$

Hidrogelovi su nazvani još i "pametnim" mrežama jer pokazuju značajne fizičko-hemijske promene kao odgovor usled malih promena u okruženju. Predmet su naučnog istraživanja od 1960. godine zbog njihove potencijalne primene u oblasti farmacije, biomedicine, biotehnologije, poljoprivrede i kozmetike (Lee i sar., 2013; Ullah i sar., 2015). Ovi materijali mogu se sintetisati da odgovore na niz fizioloških stimulansa prisutnih u organizmu (pH, jonska jačina, temperatura) i pripadaju grupi hidrogelova koji su osetljivi na spoljne stimulanse (Peppas i sar., 2000; Koetting i sar., 2016). Promenom spoljašnjih stimulanasa može se uticati na svojstva materijala kao što su stepen bubrenja, poroznost, fizička struktura itd. (Koetting i sar., 2016). Promene koje nastaju su reverzibilne tj. hidrogelovi se mogu vratiti u prvobitno stanje nakon uklanjanja stimulansa sredine (Ullah i sar., 2015). Za sintezu hidrogelova mogu se koristiti prirodni i/ili sintetički polimeri (Hoffman, 2002). Sintetički polimeri uglavnom ne poseduju osobine poput biodegradabilnosti, biokompatibilnosti, koje su važna karakteristika prirodnih polimera, ali njihova struktura omogućava da se modifikacijom postignu iste. Odabirom monomera i primenom odgovarajuće sinteze, svojstva hidrogelova mogu biti kreirana za specifičnu primenu. Hidrogelovi se poslednjih godina intenzivno koriste u terapijskoj oblasti za dobijanje bezbednih transportnih sistema kako bi se postigao željeni terapijski efekat i izbegli neželjeni efekti. Primenuju se za dizajniranje sistema za ciljanu terapiju i kontrolisanu isporuku terapijskih agenasa, uključujući hidrofobne i hidrofilne lekove, stabilne i nestabilne makromolekule i male molekule, kao i ćelije. Inkapsulacija hidrofilnog leka u hidrogel se najčešće postiže primenom tehnike *in situ* koja podrazumeva da se inkapsulacija leka i formiranje mreže hidrogela odigrava istovremeno. Druga tehnika koja se koristi za inkapsulaciju leka u hidrogel je "post-loading". Ovom tehnikom se sintetisani kserogel uroni u rastvor leka određene koncentracije i ostavi da bubri određen vremenski period pri čemu lek ulazi u hidrogel procesom difuzije (Hoffman, 2002; Li i Mooney, 2016; Onaciu i sar., 2019).

Difuzija je takođe jedan od najčešćih mehanizama oslobađanja leka iz sistema na bazi hidrogelova. Na osnovu mehanizma oslobađanja leka hidrogelovi se mogu svrstati u tri grupe:

- sistemi kontrolisani difuzijom (matrični ili rezervoar);
- sistemi kontrolisani bubrenjem kod kojih je bubrenje hidrogela sporije od difuzije leka i
- sistemi koji su hemijski kontrolisani tj. hemijske reakcije koje se odvijaju u mreži hidrogela kontolišu oslobađanje leka iz nje (Sim i sar., 2012; Shoukat i sar., 2021).

Na slici 1 prikazane su tehnike inkorporiranja leka i mehanizmi oslobađanja leka iz hidrogelova.



Slika 1. (I) Tehnike inkorporiranja leka u hidrogel; (II) Mehanizmi oslobađanja leka iz hidrogelova (a) difuzija, b) degradacija polimerne mreže i c) bubrenje hidrogelova) i njihovi odgovarajući kinetički profili

Sistemi sa kontrolisanim oslobađanjem inicijalno oslobađaju veću količinu leka kako bi se brzo postigla efektivna terapijska koncentracija, a potom kinetika oslobađanja leka prati definisano ponašanje radi održavanja željene koncentracije leka. Za dizajniranje sistema za kontrolisanu isporuku leka i za predviđanje oslobađanja leka iz sistema koriste se različiti matematički modeli. Model nultog reda, model prvog reda, Higuchi model, Baker–Lonsdale model i Korsmeyer-Peppas model pripadaju grupi metoda koje su zavisne od modela i koriste se u više od 80% ispitivanja mehanizma oslobađanja leka iz sistema na bazi hidrogelova.

U tabeli 2 prikazane su jednačine najčešće korišćenih matematičkih modela za određivanje kinetike oslobađanja lekovitih supstanci iz hidrogelova (Dash i sar., 2010; Zhang i sar., 2010; Permanadewi i sar., 2019; Elmas i sar., 2020).

Tabela 2. Najčešće korišćeni modeli za određivanje kinetike oslobađanja leka iz hidrogelova

<b>Kinetički model</b>	<b>Jednačine</b>
Nultog reda	$F=k_0 \cdot t$
Prvog reda	$F=100 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t})$
Higuchi	$F=k_H \cdot t^{1/2}$
Korsmeyer–Peppas	$F=k_{KP} \cdot t^n$
Baker–Lonsdale	$3/2[1-(1-F/100)^{2/3}]-F/100=k_{BL} \cdot t$

Prilagođavanjem eksperimentalnih podataka za svaki model grafički se određuju vrednosti za Akaikov informacioni kriterijum (AIC), koeficijent regresije ( $R^2$ ), konstanta brzine (k) i za Korsmeyer–Peppas-ov model nagib (n). Dobijene vrednosti se koriste za predviđanje kinetike i mehanizma oslobađanja leka iz matrica (Dash i sar., 2010; Zhang i sar., 2010; Permanadewi i sar., 2019; Elmas i sar., 2020).

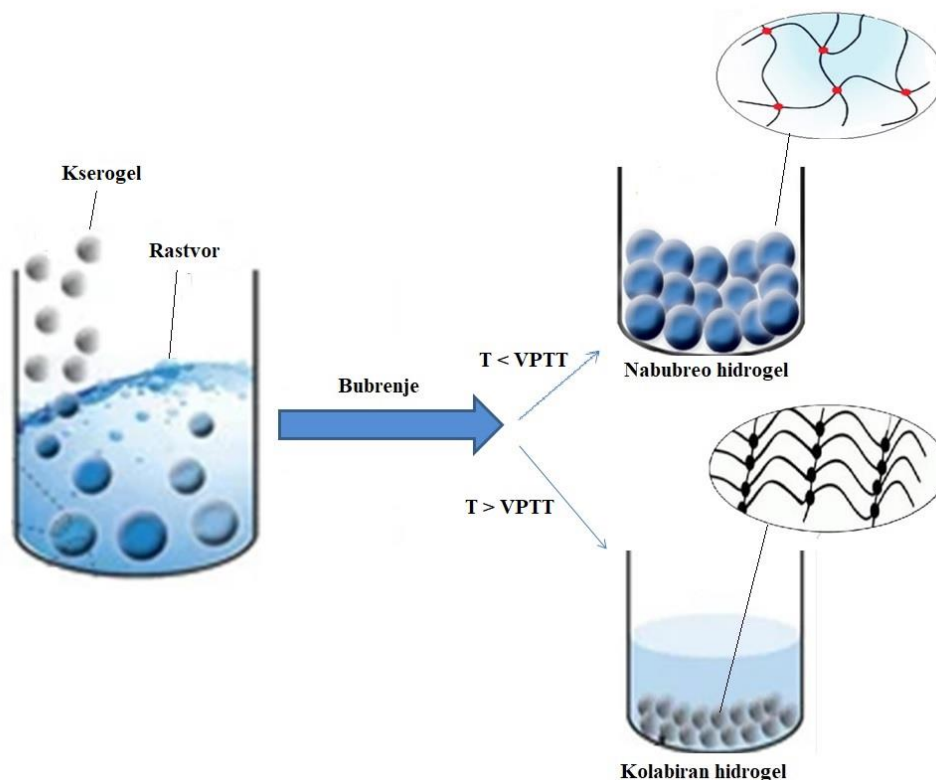
### 2.1.1 Termoosetljivi hidrogelovi

Termoosetljivi hidrogelovi u svojoj strukturi sadrže polimere čije se interakcije sa molekulima vode mogu kontrolisati promenom temperature tj. polimer bubri ili se kontrahuje u zavisnosti od temperature okolnog fluida (Grassi i sar., 2005; Cai i Suo, 2011; Ebara i sar., 2014; Matanović i sar., 2014). Važna karakteristika hidrogelova je temperatura zapreminskog faznog prelaza (Volume Phase Temperature Transition – VPTT) (Constantin i sar., 2011). Kod hidrogelova sa negativnim zapreminskim faznim prelazom na temperaturi nižoj od VPTT polimer bubri, dok se sa povećanjem temperature iznad VPTT kontrahuje (slika 2). Hidrogelovi čiji polimeri bubre iznad VPTT, a kontrahuju se ispod VPTT pripadaju grupi hidrogelova sa pozitivnim zapreminskim faznim prelazom (Cai and Suo, 2011; Augé i Zhao, 2016).

Ovo ponašanje hidrogelova može se iskoristiti za dobijanje takozvanih "pametnih" sistema za isporuku lekova jer se temperatura ljudskog organizma menja usled raznih infektivnih i inflamatornih stanja. Značajan napredak, naročito u oblasti inženjeringa tkiva i biomedicini, postignut je korišćenjem hidrogelova koji pripadaju ovoj klasi. Termoosetljivi

hidrogelovi su interesantni jer mogu da bubre *in situ* pod fiziološkim uslovima i obezbeđuju prednost u odnosu na uobičajenu primenu. Homopolimeri i kopolimeri na bazi derivata akrilamida su termoosetljivi sistemi koji su najviše ispitivani (Klouda i Mikos, 2008; Gandhi i sar., 2015; Klouda, 2015).

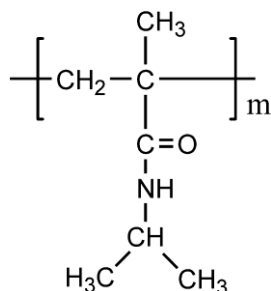
Posebno su interesantni polimeri sa donjom kritičnom temperaturom rastvora (LCST) kao što su poli(*N*-izopropilakrilamid), p(NiPAm), poli(*N*-izopropilmetakrilamid), p(NiPMAm), kopolimer na bazi NiPMAm-a i NiPAm-a itd. Polimeri koji pokazuju LCST rastvorljivi su u vodenom sistemu na temperaturi ispod LCST, dok sa povećanjem temperature iznad LCST njihova rastvorljivost opada, postaju hidrofobniji i dolazi do odvajanja faza. Ovi polimeri se nazivaju još i negativno temperaturno osetljivi. Kopolimer poli(*N*-izopropilmetakrilamid-ko-*N*-izopropilakrilamid), p(NiPMAm-ko-NiPAm) zahvaljujući prisustvu dveju sličnih termoosetljivih struktura pokazuje oštar fazni prelaz pri fiziološkim uslovima (rastvor fosfatnog pufera pri pH 7,4) što ga čini pogodnim za biomedicinsku primenu (Fundueanu i sar., 2016).



Slika 2. Šematski prikaz bubrenja negativno termoosetljivih hidrogelova

### 2.1.2 Homopolimer poli(*N*-izopropilmetakrilamid), p(NiPMAM)

Poli(*N*-izopropilmetakrilamid), p(NiPMAM) je termoosetljiv polimer koji u odnosu na p(NiPAM) poseduje jednu metil grupu više na svakoj monomernoj jedinici (Tang i sar., 2008; Spěvák, 2009; Hu i sar., 2011; Spěvák i Dybal, 2011). Dodatna metil grupa ima uticaj na intralančani kolaps i interlančanu asocijaciju. Zbog sternih smetnji metil grupe hidrofobni ostaci se ne mogu međusobno udružiti, što za posledicu ima da se fazni prelaz javlja na višoj temperaturi (Djokpe i Vogt, 2001; Tang i Liu, 2010; Fundueanu i sar., 2016). Fazni prelaz u vodenim rastvorima p(NiPMAM)-a se javlja u temperaturnom opsegu 38-42 °C (Netopilik i sar., 1997). P(NiPMAM) lanci obrazuju manje stabilne agregate u toku faznog prelaza, nego p(NiPAM) lanci. Na temperaturama višim od LCST p(NiPMAM) lanci su gotovo dehidratirani (Tang i sar., 2008). Hemijska struktura p(NiPMAM)-a prikazana je na slici 3.



Slika 3. Hemijska struktura homopolimera p(NiPMAM)-a

Kako je kritična temperatura rastvora osnovna karakteristika termoosetljivih polimera ona je ispitivana od strane većeg broja istraživača za p(NiPMAM) sa različitih aspekata. Tang i saradnici su ispitivali asocijaciju i disocijaciju p(NiPMAM) lanaca u vodi. Istraživanje je pokazalo da p(NiPMAM) lanci formiraju veće agregate na temperaturi iznad njegove LCST i da imaju manju promenu entalpije i entropije od p(NiPAM) lanaca tokom faznog prelaza, što ukazuje na to da p(NiPMAM) lanci imaju manje konformacione promene (Tang i sar., 2008). Kvantitativnim poređenjem reverzibilnosti pri temperaturno indukovanoj hidrataciji p(NiPMAM)-a i p(NiPAM)-a u vodenim rastvorima 2D korelacionom analizom Wu i saradnici su pokazali da hidratacija hidrofilne amidne grupe ima dominantan uticaj na temperaturno indukovano razdvajanje faza polimera u vodenom rastvoru (Wu i sar., 2012). U radu Kirsh-a i saradnika p(NiPMAM) i poli(*N*-vinilkaprolaktam) podvrgnuti su reverzibilnom razdvajanju faza u vodi, u funkciji temperature.

Razdvajanje faza je ispitivano u vodenim rastvorima ovih polimera u funkciji koncentracije rastvorene supstance i strukture. Temperaturno ponašanje p(NiPMAM)-a ne zavisi od strukture rastvorene supstance (Kirsh i sar., 2002). Habaue i saradnici su ispitivali stereoregularnost radikalne polimerizacije akrilamida (AM) i metakrilamida (MAM) koristeći Luisove kiseline. Razlika u stereoregularnosti dobijenih polimera uticala je na fazni prelaz p(NiPMAM)-a u vodi koji indukuje temperatura (Habaue i sar., 2002). Dybal i saradnici su u radu poredili temperaturu koja indukuje fazni prelaz u vodenom rastvoru p(NiPAM)-a i p(NiPMAM)-a primenom Infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom-prigušena totalna refleksija (ATR-FTIR) i Raman spektroskopije u kombinaciji sa kvantnim hemijskim proračunima (Dybal i sar., 2009). Rezultati istraživanja su pokazali da prisustvo ili odsustvo  $\alpha$ -metil grupe ima jak uticaj na fizičku strukturu vodenih rastvora. Iako su hidrofobne interakcije p(NiPMAM)-a i p(NiPAM)-a veoma slične, p(NiPMAM) sa dodatnom metil grupom pokazuje značajno slabije intermolekulske interakcije između amidne grupe.

To dejstvo je uzrok temperature faznog prelaza za oko 8 °C više za p(NiPMAM) u odnosu na p(NiPAM), zbog formiranja većih kompaktnih struktura (Dybal i sar., 2009). U poređenju sa p(NiPAM)-om, fazni prelaz vodenog rastvora p(NiPMAM)-a je manje analiziran (Kubota i sar., 1990; Tiktopulo i sar., 1995; Netopilik i sar., 1997). Iako p(NiPMAM) poseduje visoku vrednost LCST, fazni prelaz je veoma oštar što ga čini adekvatnim monomerom za kopolimerizaciju (Fundueanu i sar., 2016). U literaturi se mogu naći i sinteze mikrogelova p(NiPMAM)-a. U radu Wedel-a i saradnika ispitivana su i upoređena svojstva pametnih homopolimernih mikrogelova: p(NnPAM), p(NiPAM) i p(NiPMAM) sintetisanih konvencionalnom taložnom polimerizacijom bez surfaktanta. Primenom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) i mikroskopije atomskih sila (AFM) analizirana je veličina, morfologija i stepen bubrenja čestica mikrogelova. P(NiPAM) mikrogelovi pokazuju veoma oštar zapreminski fazni prelaz, dok je za p(NiPMAM) čestice utvrđeno da pokazuju više homogenu strukturu mreže u odnosu na druga dva sistema (Wedel i sar., 2016). Kako je kontrola veličine čestica jedan od najvažnijih zadataka pri sintezi koloida, Nessen i saradnici su koristili anjonski surfaktant natrijum dodecil sulfat (SDS) i katjonski surfaktant cetil trimetil amonijum bromid (CTAB) za precizno kontrolisanje veličine p(NiPMAM) mikrogel čestica, pripremljenih taložnom polimerizacijom. Koncentracija surfaktanta je varirana u širokom opsegu ispod kritične micelarne koncentracije (CMC). Veličina dobijenih čestica, raspodela veličine i oblik su proučavani metodom SEM i mikroskopijom atomskih sila. Foton korelaciona spektroskopija je korišćena u analizi zapreminskog faznog prelaza mikrogelova.



Rezultati istraživanja pokazuju da povećanje koncentracije oba surfaktanta dovodi do smanjenja veličine čestica, pri čemu su svojstva bubrenja mikrogelova skoro nepromenjena (Nessen i sar., 2013). Koloidne i fizičko-hemijske karakteristike umreženih p(NiPMAM) lateks polimera su ispitivane od strane Duracher i saradnika. Istraživanja su pokazala da se prečnik čestice smanjuje nakon povećanja temperature, što potvrđuje termoosetljivost p(NiPMAM) čestica. Zapažen je značajan uticaj temperature polimerizacije i koncentracije inicijatora na LCST. Prosečna LCST za umreženi p(NiPMAM) lateks polimer je oko 43 °C (Duracher i sar., 1999). Alenichev i saradnici su ispitivali bubrenje i mehaničko ponašanje negativno i pozitivno naelektrisane mreže p(NiPMAM)-a i p(NiPAm)-a u smeši voda/etanol, na sobnoj temperaturi. Istraživanje je pokazalo za čiste rastvarače visok stepen bubrenja, a za smeše rastvarača minimalno bubrenje. S druge strane, pozitivno naelektrisane mreže kod oba sistema pokazuju približno konstantne vrednosti stepena bubrenja nezavisno od sastava smeše rastvarača (Alenichev i sar., 2007).

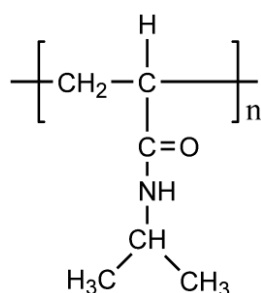
Kinetika konformacionih prelaza od spirale do globule linearnih lanaca p(NiPMAM)-a je proučavana korišćenjem fluorescencije i Rayleigh-ovog rasejanja sa brzim laserskim pulsirajućim infracrvenim zagrevanjem od strane Tang-a i Liu-a. Ovaj konformacioni prelaz od spirale do globule p(NiPMAM)-a je sličan kao kod p(NiPAm)-a, što ukazuje da dodatna metil grupa u p(NiPMAM) lancima neznatno utiče na kinetiku (Tang i Liu, 2010). Uticaj  $\alpha$ -metil supstitucije na formiranje interpolimer kompleksa proučavao je Ruiz-Rubio sa saradnicima na različitim kombinacijama polimera (Ruiz-Rubio i sar., 2015):

- p(NiPAm)-a i poli(akrilne kiseline), p(AA);
- p(NiPAm)-a i poli(metakrilne kiseline), p(MAA);
- p(NiPMAM)-a i p(AA);
- p(NiPMAM)-a i p(MAA).

Istraživanja pokazuju da najveću termičku stabilnost ima p(NiPMAM-ko-MAA). Odnosno,  $\alpha$  metilacija kod obe polimerne komponente pruža ne samo visoku temperaturu staklastog prelaza iznad 200 °C, već se i izbegava proces anhidrovanja, tj. odlaganje degradacije materijala (Ruiz-Rubio i sar., 2015).

### 2.1.3 Homopolimer poli(*N*-izopropilakrilamid), p(NiPAm)

Homopolimer p(NiPAm) je termoosetljiv polimer amfifilnog karaktera koji pokazuje u vodenim rastvorima LCST. Na temperaturi nižoj od LCST bubri, dok se zagrevanjem iznad LCST kontrahuje (Fujishige i sar. 1989; Schild, 1992; Aseyev i sar., 2008). Nagli prelaz p(NiPAm)-a od hidrofilne do hidrofobne strukture se javlja kao posledica LCST (Schild, 1992). Vodeni rastvor p(NiPAm)-a ima LCST približno 32 °C (Heskins i Guillet, 1968; Wu i sar., 1992; Lee i sar., 2009; Hanyková i sar., 2015; Zhang i sar., 2016). Hemijska struktura p(NiPAm)-a data je na slici 4.



Slika 4. Hemijska struktura homopolimera p(NiPAm)-a

Istraživanje u radu Kurečića i saradnika je fokusirano na utvrđivanje mehanizma polimerizacije i umrežavanja p(NiPAm) hidrogelova i njihovih osobina bubrenja. Hidrogelovi su sintetisani ekološkim postupkom UV polimerizacije iz monomera NiPAm-a i različitih koncentracija *N,N'*-metilenebisakrilamida (BIS) kao umreživača. Rezultati pokazuju da koncentracija umreživača utiče na strukturu hidrogelova i svojstva bubrenja. Povećanjem koncentracije umreživača struktura hidrogelova se menja iz homogene u heterogenu i ravnotežni stepen bubrenja se smanjuje (Kurečić i sar., 2012). Gelovi koji apsorbuju količinu vode veću od 100 puta od težine kserogela nazivaju se superapsorbujućim hidrogelovima (Cipriano i sar., 2014). Hidrogelovi superapsorbujućih karakteristika su sintetisani radikalnom polimerizacijom monomera NiPAm-a i AA u radu Zdravkovića i saradnika. Hidrogelovi p(NiPAm-ko-AA) pokazuju pH osetljivost i sa povećanjem pH vrednosti od 2,2 do 6,8 dolazi do porasta ravnotežnog stepena bubrenja od 8,3 do 259,8 (Zdravković i sar., 2017). Sposobnost apsorpcije hidrogelova može biti iskorišćena za koncentrisanje rastvora različitih jedinjenja, odnosno za separaciju istih od vodenih rastvora (Cai i sar., 2001; Xie i sar., 2016).

Hidrogelovi na bazi NiPAm-a i anjonskih komonomera se koriste za uklanjanje polutanata u cilju zaštite životne sredine (Rudzinski i sar., 2002; Abd El-Mohdy, 2007; Singh i sar., 2008). Kontrahovanje interpenetrirajućih (IPN) hidrogelova termoosetljivog p(NiPAm)-a i hidrofilnog poli(akrilamida) je ispitano kombinacijom nuklearne magnetne spektroskopije (NMR), metode rasipanja zraka neutrona pod malim uglom (SANS) i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC). Uticaj pripreme i sastava IPNs na fazni prelaz je ispitivan u cilju primene ovih osetljivih materijala za isporuku lekova i molekularnu separaciju (Radecki i sar., 2015). Dve vrste p(MAA-ko-NiPAm) mikrogelova sa pH osetljivim p(MAA) jezgrom i termoosetljivim p(NiPAm) omotačem pripremljeni su destilacionom taložnom ili emulzionom taložnom kopolimerizacijom NiPAm-a i BIS-a u prisustvu p(MAA) mikrogel jezgra. Zbog različitih stepena bubrenja jezgra p(MAA) i omotača p(NiPAm) u acetonitrilu i vodi p(MAA-ko-NiPAm) mikrogelovi pokazuju zapreminske promene različitih stepena u zavisnosti od spoljašnjeg stimulansa. Ispitivan je efekat inkorporacije leka i njegovog kontrolisanog oslobađanja. Kao model supstanca primenjen je doksorubicin (Liu i sar., 2017). U radu Palomino-a i saradnika su sintetisani hidrogelovi p(NiPAm) sa različitim razmerama p(NiPAm) mikročestica (Palomino i sar., 2015). Hidrogelovi na bazi p(NiPAm)-a su jedan od najčešće primenjenih termoosetljivih polimera u sistemima za isporuku leka. Veoma lako interaguju sa malim aromatičnim molekulima. Priroda i snaga interakcija utiču na efikasnost i kinetiku oslobađanja leka. Fenoli imaju ogroman uticaj na p(NiPAm) smanjenjem njegove temperature faznog prelaza.

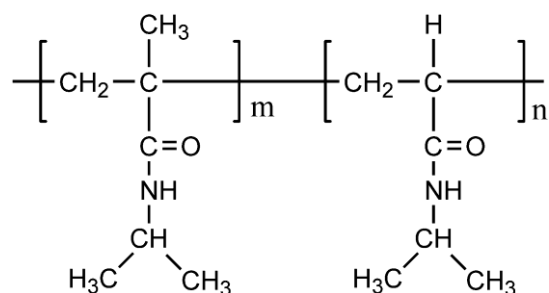
Efekat zavisi linearno od koncentracije fenola, od broja fenolnih OH grupa, kao i njihovog položaja. Derivati dopamina i amino fenoli povećavaju temperaturu faznog prelaza. Jake interakcije između molekula dopamina su favorizovane što sprečava reakcije polimer-dopamin i dovodi do kristalizacije dopamina kada se ukloni voda. Ovi rezultati pokazuju da ugradnja leka u polimerne matrice za kontrolisanu isporuku može promeniti kristalnost molekula leka. Morfologija je ključan faktor u oslobađanju leka, pa može ugroziti brzinu i efikasnost oslobađanja (Manek i sar., 2015; Palomino i sar., 2015). Constantin i saradnici su sintetisali pH i termoosetljive porozne hidrogelove na bazi NiPAm-a i MAA kao samoregulisane sisteme za isporuku leka (Constantin i sar., 2014). Termoosetljiv kompleks micela sačinjen od biokompatibilnog kalemljenog kopolimera natrijum alginat-*graft*-poli(*N*-izopropilakrilamid), (SA-*g*-p(NiPAm)) i dvovalentnog jona metala, je pripremljen za kontrolisano oslobađanje leka. Struktura micela je sačinjena od metalnih jona ( $Ba^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ) umreženog natrijum alginata i termoosetljivog p(NiPAm)-a. Polimerne micelle su pokazale dobru polidisperznost i odlična svojstva za inkapsulaciju i otpuštanje leka.

Superiorna svojstva osetljivih polimernih micela izazvana metalnim jonima ukazuju na primenu u sistemima za kontrolisanu isporuku leka (Yu i sar., 2016).

Zbog povećane rasprostranjenosti otpornih bakterijskih izolata koji više nisu osetljivi na antibiotike, nedavno je naglasak stavljen na pronalaženje alternativnih načina lečenja infekcija rane. Bakteriofaga K uspešno je formulisana sa p(NiPAm) nanosferama koje su kopolimerizovane sa alilaminom. Korišćenje termoosetljivog polimera omogućava da se nanosfere kontrahuju pri povišenoj temperaturi što je povezano sa bakterijskom infekcijom kože. Bakteriofaga ugrađena u poli(*N*-izopropilakrilamid)/alilamin nanosfere pokazala se uspešnom u uništavanju klinički relevantnog bakterijskog izolata - *Staphylococcus aureus* ST228 na 37 °C (Hathaway i sar., 2015). U cilju povećanja temperature faznog prelaza blizu vrednosti ljudskog tela, NiPAm se obično kopolimerizuje sa hidrofilnim monomerima. Međutim, kopolimerizacija NiPAm-a sa monomerima koji poseduju sličnu strukturu, kao što je NiPMAM, predstavlja idealnu alternativu da se dobije kopolimer sa oštrim faznim prelazom na temperaturi bliskoj temperaturi ljudskog tela (Fundueanu i sar., 2016).

#### **2.1.4 Kopolimer na bazi NiPMAM-a i NiPAm-a, p(NiPMAM-ko-NiPAm)**

P(NiPMAM-ko-NiPAm) je termoosetljiv kopolimer. Pokazuje oštar fazni prelaz na temperaturi bliskoj temperaturi ljudskog tela, pri fiziološkim uslovima (Fundueanu i sar., 2016). Fazni prelaz kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAm) u D<sub>2</sub>O rastvoru zavisi od sastava samog kopolimera i sa porastom sadržaja NiPMAM-a region faznog prelaza se pomera ka višim temperaturama. Temperatura faznog prelaza kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAm) sintetisanog pri molskom odnosu NiPMAM:NiPAm 3:1 je za 3 °C veća od kopolimera dobijenog pri molskom odnosu 1:3 (Starovoytova i sar., 2005). U radu Kokufuta i saradnika LCST kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAm) ispitana je u zavisnosti od sastava kopolimera u vodi. Rezultati istraživanja ukazuju da povećanjem molskog udela NiPMAM-a u kopolimeru dolazi do linearnog povećanja LCST od 32 °C (homopolimer p(NiPAm)) do 42 °C (homopolimer p(NiPMAM)) (Kokufuta i sar., 2012). Hemijska struktura kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAm) data je na slici 5.



Slika 5. Hemijska struktura kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM)

Na bazi NiPAM-a i NiPMAM-a pored kopolimera sintetisani su i mikrogelovi i nanogelovi (Starovoytova i sar., 2005; Jung i Bae, 2009; Kokufuta i sar., 2012; Fundueanu i sar., 2016). Kod p(NiPMAM-ko-NiPAM) mikrogelova LCST raste linearno sa povećanjem sadržaja NiPMAM-a u kopolimeru. Vrednosti faznog prelaza kopolimera su između vrednosti LCST čistog p(NiPAM)-a i p(NiPMAM)-a.

Kopolimerni hidrogel p(NiPMAM-ko-NiPAM) pri molskom odnosu 51/49 pokazuje vrednost LCST koja je bliska temperaturi ljudskog tela (36,8 °C), što ga čini pogodnim za biomedicinsku primenu (Fundueanu i sar., 2016). Jung i Bae su istraživali temperaturu faznog prelaza gela na bazi NiPMAM-a i NiPAM-a nanometarske veličine. Rezultati ovih istraživača još jednom potvrđuju činjenicu da povećanje broja metil grupa odnosno sadržaja NiPMAM-a u strukturi kopolimera uzrokuje višu temperaturu faznog prelaza (Jung i Bae, 2009).

### 2.1.5 Postupci za dobijanje kopolimera na bazi NiPMAM-a i NiPAM-a

Monomeri NiPMAM i NiPAM iskorišćeni su za sintezu nasumičnog kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM) UV polimerizacijom u etanolu na oko 5 °C u toku 1 h u radu Starovoytove i saradnika (Starovoytova i sar., 2005). Kopolimeri p(NiPMAM-ko-NiPAM) različitog sastava pripremljeni su slobodnom radikalnom polimerizacijom primenom inicijatora 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) (AIBN) (Kokufuta i sar., 2012). U radu Jung i Bae p(NiPMAM-ko-NiPAM) nanogelovi sa različitim molskim udelom sintetisani su taložnom polimerizacijom. U cilju predviđanja bubrenja hidrogelova, kombinovana je teorija modifikovane dvostruke rešetke i Flori-Ermanova teorija elastičnosti (Jung i Bae, 2009). Interpenetrirajuća mreža (IPN) p(NiPMAM)/p(NiPAM) ispitana je od strane Hanyková i saradnika.

IPN mreža sintetisana je tako što je p(NiPMAM) mreža nabubrela u etanolnom rastvoru monomera NiPAM-a, u prisustvu fotoinicijatora Darocur 1173 i umreživača BIS-a, u frižideru bez prisustva svetlosti i vazduha. Na osnovu rezultata istraživanja utvrđeno je da ponašanje IPN zavisi od odnosa obe komponente (Št'astná i sar., 2013; Hanyková i sar., 2015). Mikrogelovi na bazi NiPMAM-a i NiPAM-a sintetisani su slobodnom radikalnom disperzionom polimerizacijom (Keerl i sar., 2009), taložnom polimerizacijom (Clarke i Lyon, 2013) i slobodnom radikalnom kopolimerizacijom monomera u smeši vode i metanola, u prisustvu male količine umreživača BIS-a (Fundueanu i sar., 2016). Važan uslov za mikrogelove je da sačuvaju termoosetljive karakteristike. Step en bubrenja mikrogelova se smanjuje blizu, a naglo opada iznad kritične temperature rastvora.

Vrednost VPTT izračunata Bolcmanovim uklapanjem eksperimentalnih podataka je 33,7 °C (Fundueanu i sar., 2016). Dvostruko temperaturno osetljivi jezgro-omotač mikrogelovi na bazi p(NiPMAM)-a i p(NiPAM)-a sintetisani su emulzionom polimerizacijom. Berndt i saradnici su detaljno istražili strukturne karakteristike (Berndt i sar., 2006), kao i uticaj debljine omotača i sadržaj umreživača na strukturu pomenutih mikrogelova (Berndt i Richtering, 2003; Berndt i sar., 2006). Jezgro-p(NiPAM), omotač-p(NiPMAM) mikrogelovi u radu Wang-a i saradnika sintetisani su taložnom polimerizacijom, a potom podvrgnuti reakciji sa alkalnim izbeljivačem pri čemu obrazuju hloramide, pre svega u jezgru mikrogelova. Istraživanje je pokazalo da su sintetisani mikrogelovi koloidno stabilni nakon hlorovanja (Wang i sar., 2014). Takođe taložnom polimerizacijom sintetisani su jezgro-omotač mikrogelovi na bazi NiPMAM-a, NiPAM-a i AA u radu Clarke-a i saradnika. Mikrogelovi su sintetisani tako da slojevi temperaturno i pH osetljivih filmova budu odvojeni što predstavlja jedan od načina sinteze kompleksnih sistema (Clarke i sar., 2015).

### **2.1.6 Karakterizacija kopolimera na bazi NiPMAM-a i NiPAM-a**

Fazni prelaz smeše p(NiPMAM)/p(NiPAM) i kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM) određen je primenom <sup>1</sup>HNMR spektroskopije (Starovoytova i sar., 2005) i kombinacijom DSC metode i merenjem mutnoće rastvora (Kokufuta i sar., 2012). IPN p(NiPMAM)/p(NiPAM) okarakterisane su <sup>1</sup>HNMR metodom, DSC metodom, dinamičko mehaničkom spektroskopijom (Št'astná i sar., 2013; Hanyková i sar., 2015), optičkom mikroskopijom (Št'astná i sar., 2013), SANS (Hanyková i sar., 2015) u cilju određivanja temperature koja indukuje kontrahovanje IPN (Št'astná i sar., 2013; Hanyková i sar., 2015).

Kako bi se iskoristila specifična svojstva hidrogelova usled primene u raznim oblastima, neophodno je poznavati njihovu strukturu.

Dinamičko rasipanje svetlosti (DLS), optički prenos, DSC i SANS su metode koje se efektivno primenjuju za ispitivanje strukture makromolekula, ali i jezgro-omotač mikrogelova (Berndt i Richtering, 2003; Berndt i sar., 2006; Clarke i Lyon, 2013). Svojstva bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) nanohidrogelova su ispitana foton korelacionom spektroskopijom (Jung i Bae, 2009).

### **2.1.7 Primena hidrogelova na bazi NiPMAM-a i NiPAM-a**

Termoosetljivi hidrogelovi su intenzivno proučavani proteklih godina za primenu u oblasti biologije i medicine (Hu i Liu, 2010), kontrolisanu (Bajpai i sar., 2008) i ciljanu isporuku leka (Tian i sar., 2017), zaštiti životne sredine (Al-qudah i sar., 2014) i mnogim drugim aplikacijama (Wang i sar., 2007; Hoffman, 2013; Raczowska i sar., 2017). Fazni prelaz termoosetljivih polimera je ključan za njihovu primenu i zavisi od interakcija između molekula polimera, prisustva određenih funkcionalnih grupa u polimeru, jonskih i hidrofobnih interakcija, temperature i vodonične veze (Ashraf i sar., 2016). P(NiPAM) je najintenzivnije proučavan termoosetljiv polimer u sistemima za isporuku farmakološki aktivnih supstanci zbog sposobnosti prilagođavanja vremenske i prostorne isporuke u organizmu, sposobnosti da zaštiti molekule od vodenog okruženja, fiziološke degradacije ili eliminacije. Sistem za isporuku leka zasnovan na p(NiPAM) hidrogelu i odgovarajućem rastvaraču za poboljšanje rastvorljivosti i lokalno oslobađanje kurkumina sintetisan je u radu Ayar i saradnika (Ayar i sar., 2021). Kurkumin je inkorporiran u p(NiPAM) hidrogel tokom bubrenja korišćenjem metanola ili polietilen glikola male molekulske mase (PEG200). Dobijeni rezultati pokazuju da PEG200 povećava rastvorljivost kurkumina u poređenju sa metanolom i pokazuje superioran efekat na kumulativnu količinu oslobođenog kurkumina tokom 7 dana ( $33,163 \pm 0,319 \text{ mg/cm}^3$ ) u poređenju sa metanolom ( $8,765 \pm 0,544 \text{ mg/cm}^3$ ).

P(NiPAM) hidrogel u kombinaciji sa PEG200 nije pokazao nikakvu citotoksičnost i može se koristiti kao efikasan sistem za produženo oslobađanje kurkumina (Salmerón Sánchez i sar., 2004). Dinić i saradnici su uspešno sintetisali i okarakterisali homopolimerne p(NiPAM) hidrogelove kao nosače za sulfanilamid, za lokalnu (vaginalnu, rektalnu) i sistemsku primenu (peroralno) (Dinić i sar., 2023).

P(NiPAm) hidrogelovi se takođe koriste i za dermalnu (Graham i sar., 2019), okularnu (Hsue i sar., 2002) i subkutanu primenu (Lanzalaco i sar., 2017). Spektar primene hidrogelova na bazi NiPAm-a širi se pri kopolimerizaciji sa drugim monomerima.

Poslednjih godina pažnja istraživača usmerena je ka NiPMAm-u kao komonomeru za polimerizaciju sa NiPAm-om. Temperaturni opseg faznog prelaza p(NiPMAm) mikrogelova je veoma blizu biološki značajnom opsegu, što ih čini interesantnim za potencijalnu biološku aplikaciju kao što je isporuka lekova (Nessen i sar., 2013). Razgradivi p(NiPMAm)/p(NiPAm) jezgro/ljuska nanogelovi (Niezabitowska i sar., 2023) i mikrogelovi (Berndt i sar., 2006) sintetisani su za biomedicinsku primenu i kontrolisano oslobađanje, redom. P(NiPAm/NiPMAm)/hitozan jezgro/ljuska nanohidrogelovi osetljivi na spoljne stimulanse iskorišćeni su kao nosač za doksiciklin hikat (Ortega-García i sar., 2022).

Koaksijalnom tehnikom elektrospinoavanja dobijena su nanovlakna na bazi jezgro-ljuska p(NiPAm/NiPMAm) hidrogela. Dobijena nanovlakna su napravljena od jezgra termoosetljivog hidrogela koji sadrži model leka, dok je spoljna školjka napravljena od poli(L-laktid-*ko*-kaprolaktona). Sistem je pokazao svojstvo samoregulisanog oslobađanja leka (Pawłowska i sar., 2020). Termoosetljivi p(NiPAm/NiPMAm) hidrogelovi korišćeni su kao materijal za izradu pametnih prozora (Jang i sar., 2021), za razvoj platforme za detekciju glukoze u telesnim tečnostima (Ziai i sar., 2022) i za sintezu hibridnog hidrogela za dizajn i proizvodnju 3D štampanih biomaterijala (Rinoldi i sar., 2021). P(NiPMAm-*ko*-NiPAm) mikrogelovi sintetisani slobodnom radikalnom polimerizacijom sa molskim odnosom monomera 51/49 pokazuju visok stepen bubrenja i kontrahovanja pri promeni temperature ispod i iznad VPTT. Model supstanca, deksametazon, korišćena je za punjenje sintetisanih mikrogelova metodom isparavanja rastvarača. Deksametazon se oslobađa pulsirajućim mehanizmom pri promeni temperature ispod i iznad VPTT (Fundueanu i sar., 2016). Termoosetljivi mikrogelovi sintetisani od p(NiPAm)-jezgra i p(NiPMAm)-omotača, uz primenu hidrolitički razgradivog umreživača N,O-dimetakriloil-hidroksilamina, imaju potencijalnu primenu kao sistemi za isporuku lekovite supstance. Nakon hidrolitičke razgradnje umreženja u omotaču dolazi do mehaničkih i hemijskih promena u mikrogelu, omotač postaje mekši i porozniji, što omogućava veće bubrenje jezgra.

Ternarni kopolimer na bazi NiPMAm-a, *N*-propilmetakrilamida i 4-nitrofenil *N*-metakriloilglicilglicinata u reakciji sa hidrazinom formira sistem za isporuku doksorubicina. Lek je vezan za sistem preko pH osetljive hidrazonske veze. Na 41 °C sistem podleže faznoj separaciji u vodenom rastvoru i oslobađa doksorubicin. Stepem oslobađanja leka je veći u fluidima na pH vrednosti 5, nego na pH 7,4.



Sistem se pokazao pogodnim i za isporuku hemoterapeutskih agenasa u tretmanu tumora, zbog produženog oslobađanja leka (Chytry i Ulbrich, 2001).

Biokonjugat termoosetljivog polimera i enzima celulaze sa sposobnošću recikliranja je dobijen u radu Ding-a i saradnika. Najpre je sintetsan kopolimer polimerizacijom metil akrilata, NiPMAM-a i *N*-metilolakrilamida na koji je naknadno izvršena biokonjugacija sa celulazom procesom polimerizacije. Enzim je vezan kovalentnom vezom za sintetisani polimer. Ovako dobijeni proizvod pokazuje LCST od 52,5 °C. Imobilizacijom na sintetisani kopolimer enzim celulaza stabilniji je na promene temperature i pH vrednosti u odnosu na slobodni enzim. Najbitnija karakteristika biokonjugata termoosetljivog polimera i enzima ogleda se u recikliranju tj. ponovnom korišćenju. Nakon 5-og korišćenja relativna aktivnost biokonjugata iznosi 84,1% (Ding i sar., 2016).

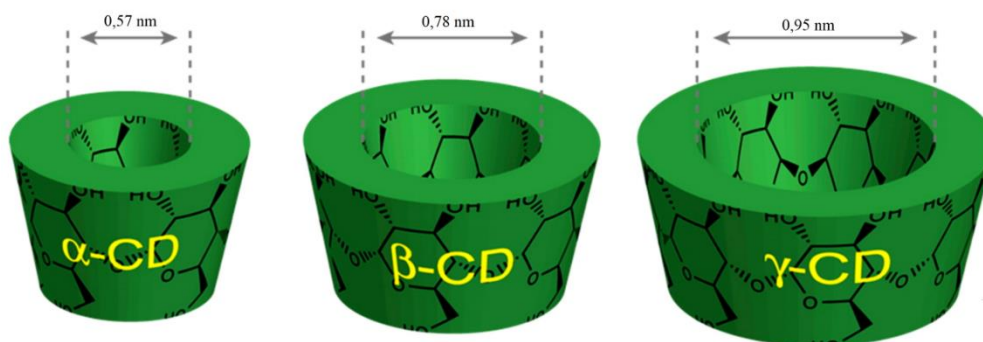
Matsumoto i saradnici su razvili nove polimere osetljive na glukozu koji reaguju pri fiziološkim uslovima (pH 7,4 i 37 °C) za primenu u obliku sistema za samoregulisano ubrizgavanje insulina kod lečenja dijabetesa melitusa. Naime, za sintezu su korišćeni sintetisani derivat fenilboronske kiseline (4-(1,6-diokso-2,5-diaza-7-oksamil) fenilboronska kiselina, (DDOPBA)) i p(NiPMAM). Glavni lanac u polimeru predstavlja p(NiPMAM) koji ispoljava željeno ponašanje u rastvoru u temperaturnom opsegu bliskom fiziološkoj temperaturi. DDOPBA predstavlja deo osetljiv na glukozu i iskorišćena je za održavanje male pKa vrednosti (~7,8). P(NiPMAM) je korišćen umesto p(NiPAM)-a za sintezu glavnog lanca sistema u cilju poboljšanja operativnih temperaturnih uslova. Na taj način je temperaturni interval u kome je sistem funkcionalan povećan, što dovodi do izražene osetljivosti glukoznog sistema blizu fiziološke temperature (Matsumoto i sar., 2003). Oslobađanje inkluzionog kompleksa iz nanokompozitnih i konvencionalnih poli(*N*-izopropilakrilamid/natrijum alginatnih) hidrogelova ispitano je u simuliranim gastrointestinalnim uslovima. Pri pH=1,2 hidrogelovi su pokazali najniži odnos oslobađanja i bubrenja a pri pH=6,8 postignuti su najviši odnosi bubrenja i oslobađanja kurkumina (Starovoytova i Spěvaček, 2006). Hidrogel poli(*N*-izopropilakrilamid-ko-itakonska kiselina) i čestice p(NiPAM)-a su korišćeni za imobilizaciju enzima lipaze (Milašinović i sar., 2010; Gawlitza i sar., 2012).

Hidrogelovi dobijeni kopolimerizacijom NiPAM-a i *N*-hidroksisukcinimida, a zatim umreženi sa poli(lizinom) mogu biti korišćeni kao membranski imobilizacioni sistemi za lipidne vezikule (Percot i sar., 2000). Inkapsulacija i oslobađanje kurkumina iz pH i termoosetljivih nanogelova na bazi NiPAM-a i poli(alilamina) uspešno je postignuto u radu Santhamoorthy i Kim-a (Santhamoorthy i Kim, 2023).

## 2.2 Ciklodekstrini i inkluzioni kompleksi

### 2.2.1 Struktura, fizičko-hemijske osobine, stabilnost i primena ciklodekstrina

Ciklodekstrini su ciklični oligosaharidi koji se sastoje od glukopiranoznih jedinica povezanih  $\alpha(1-4)$  glikozidnim vezama. Prirodni ciklodekstrini sa šest ( $\alpha$ -CD), sedam ( $\beta$ -CD) i osam ( $\gamma$ -CD) glukopiranoznih jedinica prikazani su na slici 6, a njihove fizičko-hemijske karakteristike date su u tabeli 3 (Loftsson i Brewster, 1996; Maazaoui i Abderrahim, 2015; Dahabra i sar., 2021).



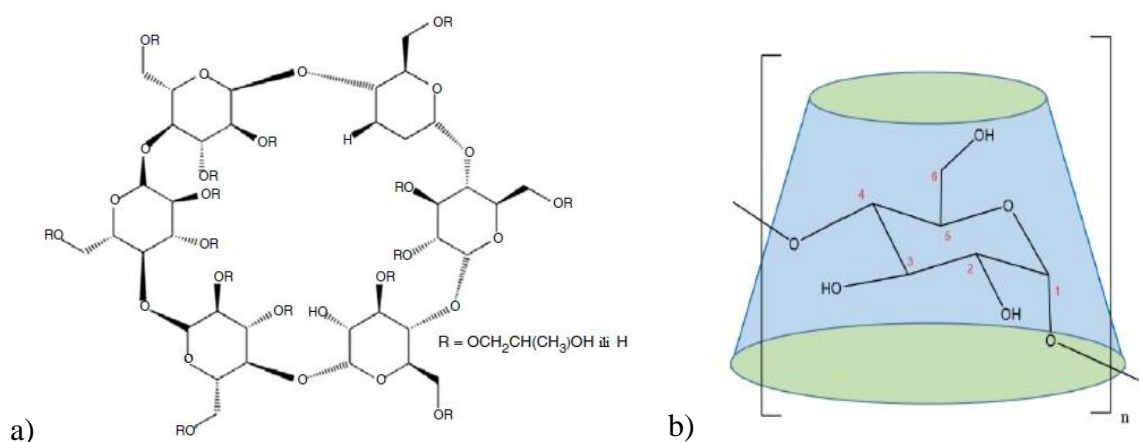
Slika 6. Struktura  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  ciklodekstrina (Dahabra i sar., 2021)

Tabela 3. Osnovne karakteristike  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  ciklodekstrina

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
Broj glukopiranoznih jedinica	6	7	8
Molekulska masa	972	1135	1297
Prečnik centralne šupljine (nm)	0,47-0,57	0,6-0,78	0,75-0,95
Visina šupljine (nm)	0,79	0,79	0,79
Zapremina šupljine (nm <sup>3</sup> )	0,174	0,262	0,427
Rastvorljivost u vodi na 25 °C (g/100 ml)	14,5	18,5	23,2

Zbog stoličaste strukture glukopiranoznih jedinica molekularna struktura ciklodekstrina, koja aproksimira konus (slika 7b), ima hidrofilnu spoljašnju površinu i lipofilnu unutrašnju šupljinu. Kao što se vidi na slici 7b, primarne hidroksilne grupe u položaju 6 orijentisane su ka užem delu konusa, dok su sekundarne hidroksilne grupe u položaju 3 i 4 orijentisane ka širem delu konusa. Zahvaljujući prisustvu hidroksilnih grupa ciklodekstrini mogu da formiraju vodonične veze sa molekulima vode.

Rastvorljivost ciklodekstrina u vodi je ograničena zbog jake intermolekulske vodonične veze u kristalnom stanju. Supstitucijom H-atoma iz OH grupa poboljšava se njihova rastvorljivost. Na slici 7a prikazana je struktura 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, sintetičkog hidroksialkilderivata sa većom rastvorljivošću u vodi u odnosu na nativni  $\beta$ -ciklodekstrin, zbog prisustva hidrofilnih alkoholnih grupa (Saokham i sar., 2018; D’Aria i sar., 2021; Poulson i sar., 2021).



Slika 7. Struktura 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (D’Aria i sar., 2021) a) i struktura konusa molekula ciklodekstrina b) (Poulson i sar., 2021)

Broj i vrsta supstituenta utiču na fizičko-hemijske osobine derivata ciklodekstrina. Za razliku od polarne spoljašnosti ciklodekstrina, unutrašnja šupljina je hidrofobna jer je obložena skeletnim ugljenicima i etarskim kiseonikom iz ostataka glukoze. Hidrofobna šupljina ima sposobnost da inkapsulira, delimično ili potpuno, organske molekule. Uslov za uspešnu inkapsulaciju je da veličina molekula koji se inkorporira odgovara veličini šupljine ciklodekstrina. Zbog svoje ciklične strukture ciklodekstrini su otporniji na enzimsku i neenzimsku hidrolizu u poređenju sa linearnim analogima.

Nativni ciklodekstrini se ne razgrađuju dejstvom  $\beta$ -amilaze.  $\alpha$  i  $\beta$ -ciklodekstrini su otporni na dejstvo  $\alpha$ -amilaze pljuvačke i pankreasa, dok je nesupstituisani  $\gamma$ -ciklodekstrin supstrat  $\alpha$ -amilaze.  $\alpha$ -amilaza razgrađuje  $\gamma$ -ciklodekstrin do jedinica glukoze i drugih šećera male molekulske mase. Nesvareni deo  $\gamma$ -ciklodekstrina, ali i  $\alpha$ - i  $\beta$ -ciklodekstrine fermentiše ljudska crevna flora (Loftsson i Brewster, 2011; Wüpper i sar., 2021; Poulson i sar., 2022). Slobodni ciklodekstrini se hidrolizuju brže nego ciklodekstrini u kompleksu i brzina hidrolize se povećava sa povećanjem veličine šupljine ciklodekstrina.

U vodi, nekim organskim rastvaračima i alkalnim rastvorima ciklodekstrini su stabilni. U kiselim rastvorima ciklodekstrini hidrolizuju pri čemu dolazi do otvaranja prstena i nastajanja linearnih oligosaharida. Ciklodekstrini pokazuju širok spektar primene zahvaljujući sposobnošću građenja inkluzionih kompleksa sa lipofilnim supstancama. Spadaju u grupu najprihvatljivijih farmaceutskih ekscipijenasa. Prirodni ciklodekstrini  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  i neki od njihovih derivata, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i sulfobutiletar- $\beta$ -ciklodekstrin-natrijum, imaju monografije u farmakopejama (Evropska i Američka) i ulaze u sastav preko 50 formulacija koje su odobrene od strane Agencija za hranu i lekove (Jansook i sar., 2018; Haley i sar., 2020). Kao rezultat fenomena molekularnog kompleksiranja ciklodekstrini poboljšavaju rastvorljivost u vodi slabo rastvorljivih lekova, povećavaju stabilnost leka (Nikolić i sar., 2004; Nikolić i sar., 2010; Kapor i sar., 2010; Nikolić i sar., 2012), povećavaju propustljivost leka kroz biološke membrane i poboljšavaju biorasploživost leka. Ciklodekstrini zahvaljujući hidrofilnoj strukturi i velikoj molekulskoj masi ne prožimaju lipofilnu membranu. Koriste se za parenteralnu, oralnu, oftalmološku, nazalnu, dermalnu, rektalnu, i sublingvalnu isporuku lekova. Pri niskim do umerenim oralnim dozama ciklodekstrini su netoksični. U parenteralnim formulacijama mogu da se koriste samo  $\alpha$ -ciklodekstrin i hidrofilni derivati  $\beta$ - i  $\gamma$ -ciklodekstrina zbog svoje netoksičnosti i brze eliminacije putem bubrega u neizmenjenom obliku.  $\gamma$ -Ciklodekstrin formira vidljive agregate u vodenom rastvoru i nije pogodan za parenteralne formulacije. Zbog svoje nefrotoksičnosti  $\beta$ -ciklodekstrin se ne može koristiti u parenteralnim formulacijama. Oralna biorasploživost hidrofilnih ciklodekstrina i njihovih derivata manja je od 3%. 50-65% doze oralno unetog hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina se izlučuje nepromenjeno fecesom, a ostatak se uglavnom metaboliše bakterijama u debelom crevu (Loftsson i Brewster, 2011; Jambhekar i Breen, 2016; Iacovino i sar., 2017; Saokham i sar., 2018).

## 2.2.2 Inkluzioni kompleksi

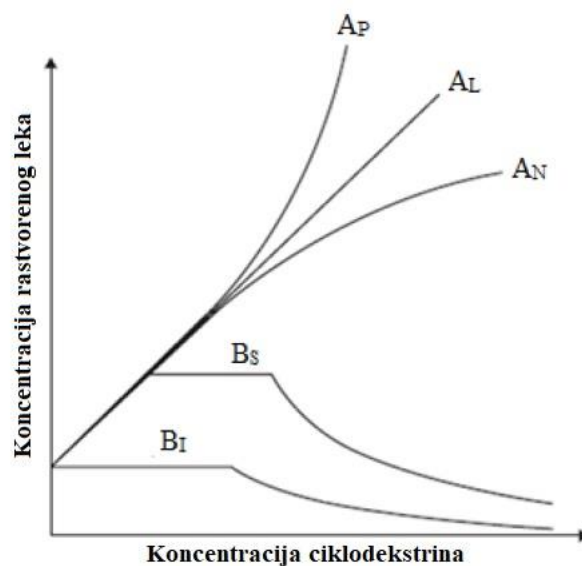
Najznačajnija karakteristika ciklodekstrina je njihova sposobnost da formiraju inkluzione komplekse (kompleksi domaćin–gost) sa širokim spektrom čvrstih, tečnih i lako isparljivih jedinjenja. Formiranje inkluzionih kompleksa se zasniva na dimenzionalnom uklapanju molekula gosta u šupljine domaćina. Molekul ciklodekstrina je domaćin unutar čije šupljine se uklapa molekul leka-gost, bez formiranja hemijskih kovalentnih veza. Hidrofobni molekuli ili lipofilni delovi većih molekula pokazuju afinitet prema hidrofobnoj šupljini ciklodekstrina. U većini slučajeva, jedan gostujući molekul formira kompleks sa jednim molekulom ciklodekstrina, što rezultira molarnim odnosom kompleksa 1:1, ali je komplekse moguće formirati i u molarnom odnosu 2:1, 1:2, 2:2 itd. U vodenim rastvorima u šupljini ciklodekstrina se nalaze molekuli vode koji mogu biti zamenjeni manje polarnim molekulima. Polarno-apolarna interakcija između vode i ciklodekstrina dovodi do energetski nepovoljnog okruženja i predstavlja pokretačku silu za supstituciju molekula vode molekulima gosta usled čega se smanjuje ukupna energija sistema, dolazi do promene entalpije, što rezultira povećanom stabilnošću kompleksa. Molekuli leka inkorporirani u šupljine ciklodekstrina su u dinamičkoj ravnoteži sa slobodnim molekulima leka u rastvoru. Ciklodekstrini mogu poboljšati rastvorljivost lipofilnih lekova u vodi bez promene njihove intrinzične sposobnosti da prodiru kroz biološke membrane. Prema Biofarmaceutskoj klasifikaciji lekova (BCS), rastvorljivost u vodi i permeabilnost su najvažniji parametri koji utiču na bioraspoloživost leka. Kompleksiranjem sa ciklodekstrinima moguće je prebaciti lekove klase II, a ponekad čak i lekove klase IV, u klasu I. Međutim, ciklodekstrini mogu smanjiti biodostupnost lekova klase I i u većini slučajeva ne poboljšavaju biodostupnost lekova klase III (Loftsson, 2002). Kompleksacijom se postiže: poboljšanje rastvorljivosti visoko nerastvorljivih molekula gostiju, stabilizacija molekula gostiju koji su podložni degradaciji usled oksidacije, pod dejstvom vidljive/UV svetlosti ili toplote, kontrola isparljivosti i sublimacija, fizička izolacija nekompatibilnih jedinjenja, maskiranje ukusa i neprijatnih mirisa i kontrolisano oslobađanje lekova. Sposobnost inkapsulacije se pokazala korisnom i za primenu u kozmetičkoj, prehrambenoj, polimernoj i tekstilnoj industriji, kao i za izradu proizvoda za ličnu higijenu i parfeme (Loftsson, 2002; Del Valle, 2004; Loftsson and Brewster, 2011; Jansook i sar., 2018; Wüpper i sar., 2021).

### **2.2.3 Tehnike izrade inkluzionih kompleksa**

Za pripremu čvrstih inkluzionih kompleksa primenjuju se različite konvencionalne i nekonvencionalne metode. Odabir odgovarajuće metode za pripremu inkluzionog kompleksa je od važnosti jer utiče na performanse i morfometrijske karakteristike finalnog proizvoda. Faktori kao što su temperatura, količina vode, vreme mešanja i uslovi sušenja zavise od prirode aktivne supstance i vrste ciklodekstrina koji se koriste za pripremu kompleksa. Metoda koprecipitacije je najčešće korišćena metoda za pripremu inkluzionih kompleksa sa hidrofobnim aktivnim supstancama. Aktivna supstanca se rastvara u minimalnoj zapremini organskog rastvarača, dok se ciklodekstrin rastvara u vodi. Rastvor organske faze se dodaje u vodenu fazu uz mešanje. Dobijeni inkluzioni kompleks se taloži i filtriranjem odvaja od rastvora. Dobijeni filtrat se ispira i suši na odgovarajućoj temperaturi. Metoda koprecipitacije se koristi za izradu inkluzionih kompleksa u laboratorijskim uslovima. Za industrijsku proizvodnju inkluzionih kompleksa koristi se metoda gnječenja. Metoda gnječenja (koja se naziva i metoda paste) je takođe jednostavna metoda u kojoj se ciklodekstrin, precizno odmeren, meša sa malom količinom prečišćene vode da bi se dobila pasta. Zatim se supstanca gost ugrađuje u ciklodekstrin uz temeljno mešanje, nakon čega se dobijeni kompleks suši. Pored metode gnječenja u industriji se koriste i metoda superkritičnim ugljen-dioksidom, metoda mlevenja, metoda isparavanja rastvarača i sušenje raspršivanjem. Metoda koja koristi mikrotalase za pripremu inkluzionih kompleksa obezbeđuje veće prinose, kraće vreme za generisanje inkluzionih kompleksa i proizvod bez ostataka organskih rastvarača. Sušenje zamrzavanjem ili liofilizacija je pogodna metoda za pripremu inkluzionih kompleksa sa termolabilnim aktivnim supstancama (Loftsson, 2002; da Silva Junior i sar., 2017; Iacovino i sar., 2017; Budhwar, 2018; Cid-Samamed i sar., 2022).

### **2.2.4 Stabilnost inkluzionih kompleksa - dijagram fazne rastvorljivosti**

Stehiometrija kompleksa lek-ciklodekstrin i numerička vrednost konstante stabilnosti kompleksa dobijaju se na osnovu grafika fazne rastvorljivosti koji prati rastvorljivost leka u odnosu na koncentraciju ciklodekstrina. Ovu tehniku fazne rastvorljivosti su prvi razvili Higuchi i Connors. Higuchi i Connors su klasifikovali komplekse proučavajući efekat koncentracije ciklodekstrina na rastvorljivost leka, što je prikazano na slici 8 (Higuchi i Connors, 1965).



Slika 8. Dijagram fazne rastvorljivosti

Na slici 8 zapažaju se profili fazne rastvorljivosti A- i B-tipa. Profili fazne rastvorljivosti A-tipa dobijaju se kada se rastvorljivost leka povećava sa povećanjem koncentracije ciklodekstrina. Kada je kompleks prvog reda u odnosu na ciklodekstrin i prvog ili višeg reda u odnosu na lek, tada se dobija linearni dijagram fazne rastvorljivosti  $A_L$ -tip (slika 8). Ukoliko je kompleks prvog reda u odnosu na lek, ali drugog ili višeg reda u odnosu na ciklodekstrin, dobija se profil fazne rastvorljivosti koji pozitivno odstupa od linearnosti,  $A_P$ -tip (slika 8). Profil fazne rastvorljivosti  $A_N$ -tip objašnjava se promenama u kompleksacionom medijumu. Profil fazne rastvorljivosti B-tip ukazuje na formiranje kompleksa sa ograničenom rastvorljivošću u vodenom medijumu za kompleksiranje. Derivati ciklodekstrina rastvorljivi u vodi formiraju profile fazne rastvorljivosti A-tipa, dok manje rastvorljivi prirodni ciklodekstrini često formiraju profile B-tipa. Profil fazne rastvorljivosti  $B_S$ -tip se odnosi na komplekse ograničene rastvorljivosti u vodi, dok  $B_I$ -tip ukazuje na nerastvorljive komplekse u kompleksacionom medijumu.

Jedan ili više molekula leka mogu formirati kompleks sa jednim molekulom ciklodekstrina, odnosno jedan ili više molekula ciklodekstrina mogu formirati kompleks sa jednim molekulom leka. Međutim, najčešće, jedan molekul leka (D) reaguje sa jednim molekulom ciklodekstrina (CD) i formira kompleks (D:CD) što je prikazano jednačinom 6:



gde je  $K_{1:1}$  konstanta ravnoteže kompleksa lek:ciklodekstrin.

Stabilnost kompleksa lek:ciklodekstrin u molskom odnosu 1:1 često se procenjuje korišćenjem konstante ravnoteže ( $K_{1:1}$ ) kompleksa u vodenom medijumu za kompleksiranje. Vrednost  $K_{1:1}$  koja ujedno predstavlja konstantu stabilnosti kompleksa lek:ciklodekstrin se može izračunati pomoću jednačine 7 ukoliko je vrednost nagiba manja od jedinice.

$$K_{1:1} = \frac{nagib}{S_0(1-nagib)} \quad (7)$$

gde je  $S_0$  intrinzična rastvorljivost leka (tj. rastvorljivost u vodenom medijumu kada nema ciklodekstrina), a *nagib* je nagib linearnog dijagrama fazne rastvorljivosti ( $A_L$ -tip).

Međutim, vrednost  $K_{1:1}$  je veoma osetljiva na male promene vrednosti  $S_0$  i za slabo rastvorljive lekove može biti komplikovano dobijanje tačne vrednosti za  $S_0$ . Iz tog razloga tačnije je odrediti efikasnost kompleksiranja (CE) kao meru solubilizacione moći ciklodekstrina prema jednačini 8 (Del Valle, 2004; Loftsson i sar., 2005; Rasheed i sar., 2008; Jambhekar i Breen, 2016; Jansook, 2018).

$$CE = S_0 K_{1:1} = \frac{nagib}{1-nagib} \quad (8)$$

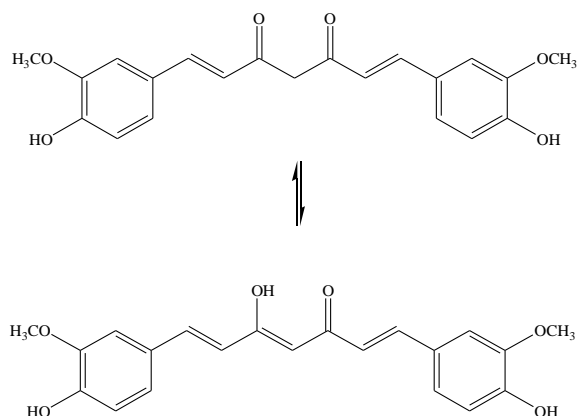
### 2.2.5 Oslobađanje leka iz kompleksa

Adekvatno pripremljen i osušen inkluzioni kompleks, veoma je stabilan, ima dug vek trajanja na sobnoj temperaturi, u suvim uslovima. Oslobađanje aktivne supstance iz inkluzionog kompleksa u vodenoj sredini odvija se u dva koraka. Prvi korak je rastvaranje kompleksa. Drugi korak je istiskivanje inkorporirane aktivne supstance molekulima vode. Nakon parenteralne primene inkluzioni kompleksi oslobađaju molekule leka kroz jednostavno razblaživanje u medijumu. Pored toga, vezivanje leka za proteine i druge vrste kompetitivnog pomeranja poboljšavaju oslobađanje leka iz inkluzionog kompleksa. Shodno tome, lekovi se brzo i kvantitativno oslobađaju iz inkluzionih kompleksa nakon parenteralne i oralne primene. Međutim, kada je razblaživanje medijuma ograničeno, ciklodekstrini mogu ometati apsorpciju leka, kao što je posle lokalne primene u oku i nazalne i bukalne primene. U takvim uslovima treba izbegavati dodavanje viška ciklodekstrina u formulacijama lekova (Stella i sar., 1999; Del Valle, 2004; Loftsson i sar., 2016; Jansook i sar., 2018).



## 2.3 Kurkumin

Kurkumin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion) (Nair i sar., 2017) ili diferuloilmetan (Rathore i sar., 2020) sastavni je deo kurkume (do ~5%), poznatog tradicionalnog začina (Nelson i sar., 2017). Lipofilan je, nerastvoran u vodi ( $1,22 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ , Kasapoglu-Calik i sar., 2019), kiselim i neutralnim rastvorima (Waghmare i Kadu, 2014), a rastvorljiv u etanolu, dimetilsulfoksidu i acetonu (Goel i sar., 2008). Iz rizoma kurkume kurkumin se može ekstrahovati organskim rastvaračima (Liu i sar., 2008). Molekulska formula kurkumina je  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$ , kojoj odgovara molekulska masa 368,38 g/mol. Tačka topljenja kurkumina je  $183 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kurkumin je tautomerno jedinjenje (Yanagisawa i sar., 2010) zbog prisustva  $\beta$ -diketona u molekulskoj strukturi i pokazuje diketo/keto-enolnu tautomeriju (slika 9) (Angelini i sar., 2020).

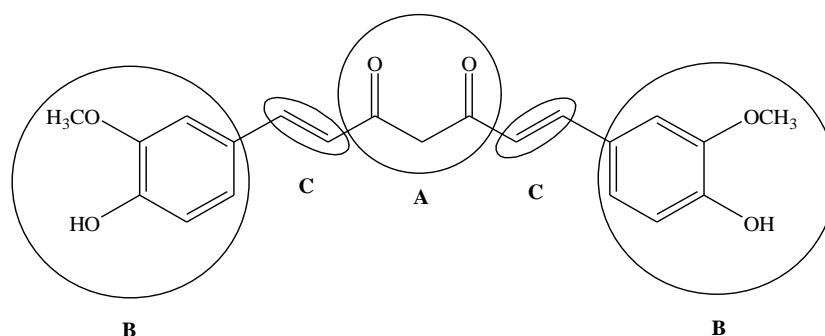


Slika 9. Keto-enolna tautomerija kurkumina

Diketo tautomer može postojati u *cis* i *trans* obliku (Wright, 2002). Polaritet rastvarača, pH i temperatura bitno utiču na keto-enolnu ravnotežu kurkumina (Girardon i sar., 2019). Odnos keto i enolnih tautomera kurkumina sa druge strane jako utiče na farmakološke aktivnosti (Rege i sar., 2019). U nepolarnim rastvaračima (ugljen tetrahlorid) u čvrstom stanju i u rastvoru kurkumin postoji u enolnom obliku (Kolev i sar., 2005; Shen i sar., 2007; Kawano i sar., 2013; Manolova i sar., 2014). Enolni oblik je stabilniji od diketo oblika (Kolev i sar., 2005). Kurkumin je nestabilan u obliku rastvora. Ima intenzivnu žutu boju, koja se menja u tamno crvenu u baznom rastvoru (Priyadarsini, 2014). Stabilnost se povećava pri smanjenju, a opada sa porastom pH vrednosti rastvora. Takođe u prisustvu svetlosti, degradacija je mnogo veća u poređenju sa odsustvom svetlosti (Kumavat i sar., 2013).

### 2.3.1 Struktura, bioraspoloživost i sigurnost primene kurkumina

Kurkumin, polifenol iz grupe diarilheptanoida poseduje dva aromatična prstena simetrično supstituisana metoksi i fenolnom OH grupom u orto položaju koja su povezana sa konjugovanim sedmočlanim ugljovodoničnim lancem koji ima enonski deo i 1,3-diketonsku grupu (slika 10). Aktivne funkcionalne grupe kurkumina su dve *o*-metoksi i dve fenolne grupe, dve dvostruke veze u ugljovodoničnom lancu i 1,3-keto-enolni deo strukture (Priyadarsini, 2013).



Slika 10. Važni funkcionalni delovi kurkumina: 1,3-keto-enolni deo (A), *o*-metoksi i fenolna grupa (B) i dvostruka veza (C)

Aromatične grupe pružaju hidrofobnost, a  $\alpha,\beta$ -nezasićeni  $\beta$ -diketo deo strukture omogućava fleksibilnost molekulu. Ove jedinstvene osobine kurkumina čine ga sposobnim da se veže za razne biomakromolekule (Gupta i sar., 2011). Biološki važne hemijske reakcije kurkumina ostvaruju se preko H-veze  $\beta$ -dikarbonilne grupe i fenilnih hidroksilnih ostataka, etarskog ostatka metoksi grupe, i mogućnosti vezivanja sa metalima i nemetalima. Pokazano je da se kurkumin direktno vezuje za brojne signalne molekule, poput inflamatornih molekula, protein kinaze, protein reduktaze, histon acetiltransferaze, histon deacetilaze, glioksalaze I, ksantin oksidaze, proteasome, virus humane imunodeficijencije (HIV1) integraze, HIV1 proteaze,  $\text{Ca}^{2+}$  adenzotрифосфатаза (ATP-aza) sarko (endo) plazmičnog retikuluma, dezoksiribonukleinska kiselina (DNK) metiltransferaze 1, proteine nosače i jone metala. Diketo grupa formira helate sa prelaznim metalima, smanjujući toksičnost izazvanu metalom, a neki od metalnih kompleksa pokazuju poboljšanu antioksidativnu aktivnost jer oponašaju enzime (Priyadarsini, 2013; Heger i sar., 2014). Kurkumin se takođe može direktno vezati za nukleinske kiseline, DNK i RNK. Sposobnost kurkumina da se veže za proteine poboljšava njegovu rastvorljivost i bioraspoloživost (Gupta i sar., 2011).

Kurkumin je nestabilan pri fiziološkom pH i brzo se razgrađuje u reakciji autooksidacije do glavnog proizvoda biciklopentadiona u kome je lanac od 7 ugljenika prošao oksigenaciju i dvostruku ciklizaciju (Gordon i sar., 2015). Proizvodi alkalne hidrolize (ferulinska kiselina, vanilin, ferulaldehid i feruloil metan), kao i proizvodi oksidacije (kao što je biciklopentadion) pokazuju biološku aktivnost, ali znatno su manje aktivni u poređenju sa kurkuminom (Zhu i sar., 2017). Glavni razlozi koji doprinose niskoj koncentraciji u plazmi i u tkivima su loša apsorpcija, brz metabolizam i brza sistemska eliminacija (Anand i sar., 2007). Klinička ispitivanja kurkumina jasno pokazuju njegovu sigurnost, podnošljivost i efikasnost protiv različitih hroničnih bolesti kod ljudi (Kunnumakkara i sar., 2017). Studije na ljudima nisu pokazale toksične efekte, a kurkumin je bio bezbedan u dozi od 6 g/dan oralno tokom 4-7 nedelja (Soleimani i sar., 2018). Studiju o bezbednosti, podnošljivosti i aktivnosti lipozomalnog kurkumina (Lipocurc™) kod pacijenata sa lokalno uznapredovalim ili metastatskim karcinomom sprovedli su Greil i saradnici. Pokazano je da 300 mg/m<sup>2</sup> lipozomalnog kurkumina je maksimalna bezbedna doza kod pacijenata koji su lečeni od karcinoma (Greil i sar., 2018). Saghatelyan i saradnici vršili su procenu efikasnosti i bezbednosti intravenske infuzije kurkumina u kombinaciji sa paklitakselom kod pacijenata sa metastatskim i uznapredovalim karcinomom dojke. Nakon 12 nedelja lečenja intravenozno primenjen kurkumin nije izazvao značajne zdravstvene probleme niti smanjenje kvaliteta života (Saghatelyan i sar., 2020).

### **2.3.2 Primena formulacija kurkumina**

Dizajniran je veliki broj formulacija kurkumina sa isparljivim uljem (Jager i sar., 2014; Gopi i sar., 2017), piperinom (Volak i sar., 2013; Baspinar i sar., 2018) i lecitinom (Cuomo i sar., 2011; Kim and Kim, 2019). Rezultati istraživanja pokazuju da ove formulacije povećavaju apsorpciju kurkumina nakon oralne primene u poređenju sa čistim kurkuminom. Liposomi, micele, fosfolipidni kompleksi, ciklodestrini, nanočestice, emulzije, hidrogelovi i fitozomi su nove obećavajuće formulacije kurkumina. Ovakve formulacije obezbeđuju dužu cirkulaciju, bolju apsorpciju i otpornost na metaboličke procese, povećavaju apsorpciju iz tankog creva, produžavaju poluživot u plazmi i samim tim povećavaju efikasnost kurkumina (Anand i sar., 2007; Liu i sar., 2016; Henriques i sar., 2020; Stohs i sar., 2020).

Ciklodekstrini mogu formirati molekulske inkluzione komplekse sa lipofilnim jedinjenjima, poboljšavajući rastvorljivost u vodi, disperznost i apsorpciju aktivnih komponenata. Istražena je bioraspoloživost formulacije kurkumina sa  $\gamma$ -ciklodekstrinom.

Ova formulacija upoređena je sa standardizovanim ekstraktom kurkumina i dve komercijalno dostupne formulacije, formulacija fitozoma kurkumina i formulacija kurkumina sa etarskim uljima kurkume ekstrahovanim iz rizoma. Formulacija kurkumina sa  $\gamma$ -ciklodekstrinom značajno poboljšava apsorpciju kurkuminoida kod zdravih ljudi (Purpura i sar., 2018). Inkluzioni kompleks kurkumina sa  $\beta$ -ciklodekstrinom pripremljen je metodom koprecipitacije. Rastvorljivost kurkumina u vodi povećana je sa 0,00122 na 0,721 mg/cm<sup>3</sup> formiranjem inkluzionog kompleksa (Kasapoglu-Calik i sar., 2019). Razvijena je i okarakterisana formulacija kapi za oči (termosenzibilni hidrogel koji sadrži latanoprost i nanočestice kurkumina) za dvostruku isporuku lekova. Razvijeni sistem dvostruke isporuke lekova pokazao je profil sa produženim oslobađanjem, *in vitro* i *in vivo* biokompatibilnost, smanjenje nivoa upale i apoptoze ćelija i zaštitu trabekularnih mrežastih (TM) ćelija od oksidativnog oštećenja (Cheng i sar., 2019). Shaikh i saradnici razvili su inkapsulirani kurkumin u poli(laktid-*ko*-glikolid) (PLGA) nanočesticama i utvrdili da *in vivo* farmakokinetička svojstva PLGA nanočestica kurkumina pokazuju devet puta veću oralnu bioraspoloživost u poređenju sa sirovom suspenzijom kurkumina i kombinacijom kurkumina sa piperinom (Shaikh i sar., 2009). PLGA nanočestice kurkumina pokazale su povećanje oralne i intravenozne bioraspoloživosti (Gera i sar., 2017). Oralna formulacija nano-kurkumina može značajno smanjiti vreme oporavka kod hospitalizovanih pacijenata od COVID-19 (Saber Moghaddam i sar., 2020). Hibridni kurkumin-fosfolipidni kompleks korišćen je kao sistem oralne primene leka za inhibiranje metastaze karcinoma dojke i pluća (Liu i sar., 2019). U radu Wang i saradnika razvijena je formulacija kurkumin fosfolipidni kompleks (CPC) sa visokim performansama, koji može poboljšati protočnost, rastvorljivost i oralnu bioraspoloživost kurkumina (Wang i sar., 2018). Polimerne micelle izrađene primenom blok kopolimera poli(etilen glikol)-blok-poli(kaprolakton) omogućavaju odloženo oslobađanje kurkumina (Gupta i sar., 2020). U radu Karavasili i saradnika ispitana je aktivnost peptidnog hidrogela sa istovremenom isporukom doksorubicina i kurkumina u terapiji ćelija raka glave i vrata. Rezultati su pokazali terapeutsku korisnost dvostrukog peptidnog hidrogela sa ugrađenim lekovima za lokalno lečenje raka glave i vrata (Karavasili i sar., 2019).

Kompozitni hidrogel amilopektin-hitozan za isporuku kurkumina sintetisan je i ispitan je u radu Liu i saradnika. Istražene su karakteristike oslobađanja inkapsuliranog kurkumina u simuliranoj želudačanoj i crevnoj tečnosti. Rezultati su pokazali da je sintetisan hidrogel omogućio stabilnost kurkumina u želucu i oslobađanje u tankom crevu (Liu i sar., 2020).

Hitozan/nanocelulozni hidrogel sa nejonskim surfaktantom korišćen je takođe za isporuku kurkumina (Gunathilake i sar., 2018). U radu Shefa i saradnika kurkumin je ugrađen u oksidisani sistem hidrogela celuloza-poli(vinil alkohol) postupkom smrzavanja. Studije *in vitro* na pacovima pokazale su da ovo može biti efikasna metoda za prirodno zarastanje rana (Shefa i sar., 2020). U radu Sahin i saradnika razvijena je nova, visoko bioraspoloživa formulacija kurkumina koja se naziva Advanced Ultrasol Curcumin (AUC) sa poboljšanom stabilnošću u crevima. AUC je u primenjenim dozama efikasna u poboljšanju patofiziologije osteoartritisa u eksperimentalno indukovanom osteoartritisu kod pacova (Sahin i sar., 2020). Ispitana je protivupalna aktivnost Longvida® Optimized Curcumin (LC), na dvomesečnim miševima divljeg tipa i GFAP-IL6. LC je sposoban da ublaži inflamaciju i poboljša neurodegeneraciju i motoričke defekte kod miševa GFAP-IL6 (Ullah i sar., 2020).

Postoje razne komercijane formulacije kurkumina sa definisanom bioraspoloživošću i farmakokinetikom kao što su Meriva®, LongVida®, CurQfen™, NovaSol®, CurcuWin®, Biocurcumax™, Curcumin C<sup>3</sup> Complex® + Bioperine, Cavacurmin® Theracurmin™. Od komercijanih formulacija posebno se ističu NovaSol® (185), Curcuwin® (136) i LongVida® (100) jer su pokazale preko 100 puta veću bioraspoloživost u odnosu na referentni kurkumin (Jamwal, 2018).

### 2.3.3 Farmakološke aktivnosti kurkumina

#### 2.3.3.1 Antibakterijska aktivnost

Kurkumin pokazuje široki spektar antibakterijskog dejstva. Izaziva oštećenje membrane u ćelijama gram-pozitivnih (*Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis*) i gram-negativnih (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*) bakterija (Tyagi i sar., 2015). Blokira rast bakterija zahvaljujući svojim strukturnim karakteristikama i stvaranju proizvoda antioksidacije, inhibira bakterijske faktore virulencije, stvaranje bakterijskog biofilma i sprečava bakterijsku adheziju na receptore domaćina putem sistema za regulaciju nivoa bakterija. Kao fotosenzibilizator, kurkumin pod zračenjem plavog svetla indukuje fototoksičnost i inhibira rast bakterija (Zheng i sar., 2020).

U radu Adamczak i saradnika testirana je efikasnost kurkumina na preko 100 sojeva patogena u okviru 19 vrsta *in vitro*. Ova aktivnost određena je metodom mikrodilucije u bujonu i izračunavanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Rezultati su potvrdili mnogo veću osetljivost na gram-pozitivne nego na gram-negativne bakterije. MIC kod tipova *S. aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *E. coli* i *Proteus mirabilis* koji su otporni na više lekova bila je visoka ( $\geq 2000 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ).

Međutim, kurkumin je bio efikasan protiv nekih vrsta i sojeva: *Streptococcus pyogenes* (srednja MIC=31,25  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ), *S. aureus* osetljiv na meticilin (250  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ), *Acinetobacter lwoffii* (250  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) i pojedinačni sojevi *E. faecalis* i *P. aeruginosa* (62,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ). Kurkumin pokazuje lošu aktivnost protiv kliničkih izolata *Candida species*. Kurkumin se može smatrati perspektivnim antibakterijskim sredstvom, ali sa vrlo selektivnom aktivnošću (Adamczak i sar., 2020).

#### 2.3.3.2 Antivirusna aktivnost

Antivirusno dejstvo kurkumin ispoljava ometanjem replikacije virusa ili suzbijanjem ćelijskih signalnih puteva koji su od suštinskog značaja za replikaciju virusa, kao što su fosfatidilinozitol 3-kinaze/protein kinaze B (PI3K/Akt) i nuklearni faktor-kapa B (NF- $\kappa$ B) (Mathew i Hsu, 2018). Antivirusnu aktivnost kurkumin ispoljava protiv DNK i RNK virusa (Balasubramanian i sar., 2019).

Ferreira i saradnici utvrdili su da kurkumin značajno smanjuje replikaciju HIV-1 i virus *Herpes simplex* tipa 2 (HSV-2) u hronično zaraženim T-ćelijama, odnosno primarnim humanim genitalnim epitelnim ćelijama (GEC-ima) (Ferreira i sar., 2015). Kurkumin efikasno blokira replikaciju herpes virusa povezanog sa sarkomom i inhibira patogene procese angiogeneze i invazije ćelija (Li i sar., 2019). Kurkumin takođe ispoljava antivirusnu aktivnost protiv virusa Zika i chikungunia, virus denge, virus hepatitisa C (Mounce i sar., 2017), koksaki virus, humani papiloma virus, teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2) itd. (Si i sar., 2007; Mounce i sar., 2017; Teymouri i sar., 2017; Babaei i sar., 2020). SARS-CoV-2 je zarazni virus koji uzrokuje koronavirusnu bolest-2019 (COVID-19) (Soni i sar., 2020). Bolest sa znatnim mortalitetom širom sveta predstavlja globalnu pretnju zbog poteškoća u lečenju jer trenutno ne postoji odobreni antivirusni lek sa dokazanom efikasnošću i manjim neželjenim efektima (Zahedipour i sar., 2020; Dourado i sar., 2021). Ozbiljnost epidemije podstakla je naučnike da ispituju postojeće lekove sa potencijalom u lečenju COVID-19 (Soni i sar., 2020). Istraživanja pokazuju da je kurkumin zbog svog dobro ispitanog i potvrđenog antiinflamatornog, antivirusnog, antinociceptivnog, imunomodulatornog, antipiretičkog, antifibrotičkog, pulmoprotektivnog i efekta protiv umora dobar kandidat za lečenje virusa COVID-19 i sprečavanje fatalnih komplikacija ove bolesti. Kurkumin ima sposobnost interakcije sa proteinima spajak ili angiotenzin 2 proteinima na putu prenosa signala izazvanog COVID-om 19. Kurkumin takođe inhibira nekoliko važnih signalnih puteva kod virusne infekcije, kao što su transkripcioni faktori (NF- $\kappa$ B), pretvarač signala i aktivator transkripcije 3 (STAT-3), Vnt/b-katenin, nuklearni faktor E2-vezani faktor (Nrf2), p38/Mitogenom-aktivirane proteinske kinaze (MAPK)) i upale izazvane virusom modulirajući manifestaciju različitih faktora (Interleukin 10 (IL-10), IL-18, IL-6, faktor nekroze tumora (TNF)- $\alpha/\beta$  i COXS-2) kod bolesti COVID-19 (Subhan i sar., 2020; Thimmulappa i sar., 2021). Valizadeha i saradnici ispitivali su efekat nano-kurkumina na modulaciju inflamatornih citokina kod pacijenata sa COVID-om 19. Ekspresija informacione ribonukleinske kiseline (mRNA) i nivo sekrecije citokina Interleukin-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, faktora nekroze tumora-alfa (TNF- $\alpha$ ) i IL-18 procenjeni su pomoću lančane reakcije polimerazom (PCR) u realnom vremenu i enzimski imunosorbentni test (ELISA), redom. Rezultati su pokazali da je ekspresija mRNK IL-1 $\beta$  i IL-6 dramatično smanjena nakon primene nano-kurkumina. Ova studija sugerise da regulisanjem inflamatornog odgovora nano-kurkumin može da se koristiti kao inovativno terapijsko sredstvo za pacijente obolele od COVID-a 19 (Valizadeha i sar., 2020).

### **2.3.3.3 Antiinflamatorna aktivnost**

Reaktivne vrste kiseonika (ROS) igraju ključnu ulogu u pojačanju upale aktivacijom transkripcionih faktora NF- $\kappa$ B, aktivator protein 1 (AP-1), acetilaciji i deacetilaciji nuklearnog histona kod različitih inflamatornih bolesti (Rahman i sar., 2006). Antiinflamatorni efekat kurkumina zasniva se na njegovoj sposobnosti da inhibira COKS-2 (Goel i sar., 2001), lipoksigenazu (LOKS) (Prasad i sar., 2004), inducibilnu sintazu azotnog oksida (iNOS) (Manikandan i sar., 2010), metabolizam arahidonske kiseline (Hong i sar., 2004), citokine (interleukine (Chai i sar., 2020) i faktor nekroze tumora (Yu i sar., 2018), NF- $\kappa$ B (Shishodia i sar., 2005)) i oslobađanje steroidnih hormona (Castaño i sar., 2019). COKS-2, LOKS i iNOS su važni enzimi koji posreduju u zapaljenskim procesima. Nepravilna regulacija COKS-2 i/ili iNOS povezana je sa patofiziologijom određenih vrsta karcinoma kod ljudi, kao i sa upalnim poremećajima (Menon i Sudheer, 2007).

Rezultati predkliničkih studija na životinjskim modelima koji imaju invazivnu upalu pluća pokazuju da kurkumin ispoljava zaštitni efekat. On reguliše ekspresiju pro- i protivupalnih faktora, izaziva apoptozu polimorfonuklearnih neutrofilnih ćelija i uklanja ROS, što poboljšava inflamatorni odgovor. Ove studije pokazuju da se kurkumin može koristiti kao terapijsko sredstvo protiv upale pluća i akutne povrede pluća (ALI)/fatalni akutni respiratorni distres sindrom (ARDS) kod ljudi, koji su posledica infekcije korona virusom (Liu i Ying, 2020).

### **2.3.3.4 Antioksidativna aktivnost**

Slobodni radikali se dobijaju iz kiseonika i azota (reaktivne azotne vrste (RNS)). U ljudskom telu generišu se u različitim endogenim sistemima, u patofiziološkim stanjima ili izlaganjem različitim fizičko-hemijskim uticajima. Slobodni radikali mogu promeniti lipide (peroksidacija lipida), proteine (gubitak enzimske aktivnosti) i DNK (mutageneza i karcinogeneza), doprinose starenju i brojnim ljudskim bolestima. Prirodni zaštitni antioksidativni mehanizmi ispoljavaju superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation (GSH), glutation peroksidaza (GPx) i reduktaza, vitamin E (tokoferoli i tokotrienoli), vitamin C itd. (Devasagayam i sar., 2004).

Snažnu antioksidativnu aktivnost pokazuje i kurkumin. Antioksidativno svojstvo pripisuje se prisustvu različitih funkcionalnih grupa uključujući metoksi, fenoksi i dvostruke veze ugljenik-ugljenik u njegovoj strukturi (Menon i Sudheer, 2007; Wright, 2002).



Kurkumin je klasični fenolni antioksidans koji donira H atome iz fenolnih grupa (Barclay i sar., 2000; Priyadarsini i sar., 2003). U radu Samarghiian i saradnika utvrđeno je da kurkumin može inhibirati oksidativna oštećenja izazvana stresom u mozgu, jetri i bubrezima pacova (Samarghiian i sar., 2017). Peroksidacija lipida značajno opada kod pacova koji su tretirani kurkuminom pre primene  $\gamma$ -zračenja (Jagetia i Rajanikant, 2015). Kurkumin povećava enzimsku antioksidativnu aktivnost povećanjem ekspresije metionin sulfoksid reduktaze (MSRA) i povećanjem nivoa enzima MSRA, SOD, CAT i GPx (Meshkibaf i sar., 2019). Kurkumin može delovati kao antioksidans protiv oksidativnog stresa usled dijabetes melitusa pacova povećanom ekspresijom SOD na fibroblastima (Haryuna i sar., 2017). Procenjena je antioksidativna aktivnost kurkumina pomoću testa 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikala u poređenju sa askorbinskom kiselinom, poznatim antioksidansom. Uklanjanje slobodnih radikala kurkuminom i askorbinskom kiselinom bilo je 69%, odnosno 62% u koncentraciji 0,1 mM, respektivno. Nije primećena bitna razlika između kurkumina i askorbinske kiseline u antioksidativnom potencijalu (Asouri i sar., 2013). Formulacije kurkumina sa različitim nosačima u kojima je stabilan i zaštićen od različitih uticaja se koriste kao antioksidativna sredstva (Chen i sar., 2020).

## 3 EKSPERIMENTALNI DEO

### 3.1 Reagensi i materijali

Za sintezu hidrogelova, pripremu inkluzionog kompleksa i hidrofilnog Karbopol<sup>®</sup> gela korišćeni su:

- *N*-izopropilmetakrilamid (NiPMAM) 97%, (Acros Organics, New Jersey, SAD);
- *N*-izopropilakrilamid (NiPAM) 99%, (Acros Organics, New Jersey, SAD);
- 2,2'-azobis(2-metilpropionitril) (AZDN) 98%, (Acros Organics, New Jersey, SAD);
- etilen glikol dimetakrilat (EGDM) 97%, (Fluka Chemical Corp, Švajcarska);
- kurkumin 97%, (Tokyo Chemical Industry Co.,Tokyo, Japan);
- 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin 97%, (Tokyo Chemical Industry Co.,Tokyo, Japan);
- Tween 20 (Alfa Aesar, ThermoFisher, Kandel, Nemačka);
- kalijum bromid (KBr) 99%, (Merck KGaA, Darmstadt, Nemačka);
- etanol 99,5%, (Merck KGaA, Darmstadt, Nemačka);
- metanol HPLC čistoće  $\geq 99,9\%$ , (Merck KGaA, Darmstadt, Nemačka);
- pufer Hank's BSS pH 7,4 GmbH (PAA Laboratories, Pasching, Austrija);
- Karbopol 940<sup>®</sup> (Comcen, Beograd, Srbija);
- propilen glikol (Fargon, Rotterdam, Holandija);
- trietanolamin (Henkel, Rocky Hill, SAD);
- natrijum-benzoat (Merck KGaA, Darmstadt, Nemačka).

Svi reagensi korišćeni su bez prethodnog prečišćavanja.

## 3.2 Metode sinteze i pripreme sistema sa kurkuminom

### 3.2.1 Sinteza p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova

Kopolimerni hidrogelovi sintetisani su u etanolu slobodno-radikalskom polimerizacijom monomera NiPMAM-a i komonomera NiPAM-a primenom inicijatora AZDN-a i umreživača EGDM-a. Količina inicijatora je konstantna (30 mg), dok je količina monomera, komonomera i umreživača varirana. Potrebne količine reaktanata za sintezu kopolimernih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova prikazane su u tabeli 4.

Reakcione smeše su pripremljene rastvaranjem određene količine reaktanata (tabela 4) u etanolu (2 cm<sup>3</sup>) i dobro homogenizovane. Homogenizovane smeše ubrizgane su u jednostrano zatopljene staklene cevčice promera 5 mm koje su potom zatopljene i sa druge strane.

Tabela 4. Odmerene količine reaktanata za sintezu kopolimernih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova

Uzorak	10/90	20/80	30/70	40/60	50/50	60/40	70/30	80/20	90/10
NiPMAM (mg)	82,66	165,33	248	330,66	413,33	496	578,66	661,33	744
NiPAM (mg)	661,98	588,43	514,87	441,32	367,77	294,21	220,66	147,10	73,55
EGDM (mol%)	1,5			2			3		
EGDM (mg)	19,326			25,768			38,652		

Reakcija polimerizacije izvedena je u režimu: 0,5 h na 70 °C, 2 h na 80 °C i 0,5 h na 85 °C. Sintetisani hidrogelovi se nakon hlađenja izvade iz staklenih cevi, odmere i seku na cilindre debljine 2 mm. U cilju uklanjanja rezidualnih reaktanata, sintetisani hidrogelovi prelivevi su metanolom (60 cm<sup>3</sup>) i ostavljeni da odstoje 168 h. Nakon ekstrakcije u metanolu hidrogelovi se ispiraju rastvorima metanola i destilovane vode (75/25, 50/50, 25/75 i 0/100 v/v, redom) tokom 24 h. Posle ispiranja, hidrogelovi se suše u sušnici na 45 °C do konstantne mase.

Kod označavanja uzoraka (npr. 10/90/2) prvi broj označava mol% NiPMAM-a, drugi broj mol% NiPAM-a, a treći mol% umreživača EGDM-a u odnosu na ukupnu količinu monomera.

## **3.2.2 Priprema inkluzionog kompleksa i fizičke smeše sa kurkuminom**

### **3.2.2.1 Priprema inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin**

Kurkumin (368,38 mg) je rastvoren u 200 cm<sup>3</sup> apsolutnog etanola i dodat u rastvor 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina koji je pripremljen rastvaranjem 1541,54 mg 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u 100 cm<sup>3</sup> destilovane vode. Tako dobijena smeša je uravnotežavana mešanjem na magnetnoj mešalici na sobnoj temperaturi 96 h, zaštićena od svetlosti. Dobijeni rastvor je koncentrovan na vakuum uparivaču na 40 °C do minimalne zapremine, a zatim sušen u eksikatoru iznad dehidratacionog sredstva na sobnoj temperaturi do konstantne mase. Molski odnos kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u inkluzionom kompleksu je 1:1.

### **3.2.2.2 Priprema fizičke smeše**

Fizička smeša priprema se jednostavnim mešanjem kurkumina i kompleksirajućeg agensa (2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin) u molskom odnosu 1:1, u avanu sa pistilom.

### **3.2.3 Priprema matriks sistema - inkorporiranje kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u sintetisane hidrogelove**

Matriks sistemi sa kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovima dobijeni su bubrenjem hidrogelova do ravnoteže u etanolnom rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin koncentracije 1,23 mg/cm<sup>3</sup>, na temperaturi 25 °C.

Odmereni uzorci p(NiPMAm-ko-NiPAm) kserogelova (50 mg), prelivevi su rastvorom inkluzionog kompleksa kurkumina (5 cm<sup>3</sup>) i ostavljeni da bubre na sobnoj temperaturi, na tamno. Nakon postizanja ravnoteže, nabubrela p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi su dekantovanjem odvojeni od preostalog rastvora. Hidrogelovi su isprani destilovanom vodom radi uklanjanja neapsorbovane količine inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, a potom je uklonjen višak vode sa površine matriks gelova.

Sadržaj inkorporiranog kurkumina u p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelove određen je na osnovu razlike u količini kurkumina u početnom rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i supernatantu nakon postizanja ravnoteže bubrenja primenom HPLC metode (odjeljak 3.3.6). Efikasnost inkorporiranja kurkumina u sintetisane hidrogelove izračunava se na osnovu mase uzoraka hidrogelova pre i posle bubrenja u rastvoru kurkumina.

### 3.2.4 Priprema hidrofilnog Karbopol<sup>®</sup> gela sa kurkuminom i inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom

Poliakrilna kiselina spada u grupu organskih sintetskih makromolekula. Evropska farmakopeja je vodi pod imenom karbomer. Karbomeri se sintetišu polimerizacijom akrilne kiseline ili njenih derivata sa agansom za umrežavanje pri čemu se dobija trodimenzionalna polimerna mreža koja bubri u vodi i formira hidrogel. Karbomerni hidrogelovi su pH osetljivi zbog jonizujuće prirode poli(akrilne kiseline) i neophodno je izvršiti neutralizaciju da bi se dobio hidrogel. Najčešće se neutrališu bazama rastvorljivim u vodi. U baznoj sredini poli(akrilna kiselina) se deprotonuje, nastali anjoni izazivaju elektrostatičko odbijanje između lanaca i formira se trodimenzionalna mreža. U kiseloj sredini narušava se struktura gela kao posledica protonovanja poli(akrilne kiseline). Bioadhezivne i termostabilne karbomerne hidrogelove karakteriše visok viskozitet i kompatibilnost sa biološki aktivnim supstancama. Koriste se u formulacijama za negu kože, u losionima, gelovima, kao i u proizvodima za negu kose (Islam i sar., 2004; Martinović i sar., 2022; Kumara, 2015; Ergashev, 2021).

Pripremljen je hidrogel karbomera, zaštićenog imena Karbopol<sup>®</sup>, (tabela 5) prema uputstvu datom u Magistranim formulama 2008 (MF 2008).

Tabela 5. Sastav gela

Sastojci	Funkcija	Sastav gela (%, w/w)
Karbopol 940 <sup>®</sup>	Sredstvo za geliranje	1,00
Propilen glikol	Humektans	10,00
Trietanolamin, 10%	Sredstvo za neutralizaciju	14,00
Prečišćena voda	Vodena faza	do 100

Karbopol 940<sup>®</sup> se izmeša sa malom količinom prečišćene vode. Ostatak prečišćene vode dodaje se postepeno i meša dok ne nastane disperzija bez grudvica. Disperzija se uz mešanje razblaži propilenglikolom i doda rastvor trietanolamina, da se izvrši neutralizacija. Nastala smeša se ostavi da bubri do postizanja odgovarajuće konzistencije gela, uz povremeno mešanje. Gel je konzervisan natrijum-benzoatom (0,1%).

Za potrebe teksturne analize pripremljena su tri uzorka gela. Sastav gelova dat je u tabeli 6.

Tabela 6. Vrsta i količina komponenti koje ulaze u sastav gelova

	Gel 1 (g)	Gel 2 (g)	Gel 3 (g)
Kurkumin			0,2
Inkluzioni kompleks kurkumina		1,3	
Karbopol <sup>®</sup> gel	do 200	do 200	do 200

Gel 1 je uzorak koji sadrži samo Karbopol<sup>®</sup> gel pripremljen prema uputstvu datom u Magistranim formulama 2008 i korišćen je kao placebo u analizi. U jedan uzorak gela dispergovan je inkluzioni kompleks kurkumina (Gel 2), a u drugi uzorak gela kurkumin (Gel 3). Uzorci Gel 2 i Gel 3 sadrže istu koncentraciju bioaktivne supstance, kurkumina. Gelovi su homogenizovani 30 minuta korišćenjem propelerske laboratorijske mešalice RV16 basic (IKA®VERKE, Nemačka). Ovako pripremljeni gelovi podvrgnuti su teksturnoj analizi.

### 3.2.5 Oslobođanje kurkumina iz matriks sistema

*In vitro* ispitivanje oslobođanja kurkumina iz nabubrelih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom vršeno je u medijumu koji simulira fiziološke uslove. Uzorci su preliveeni sa po 10 cm<sup>3</sup> rastvora (9 cm<sup>3</sup> Hank's BSS pufera pH 7,4 i 1 cm<sup>3</sup> rastvora Tween-a 20 koncentracije 1,52 mg/cm<sup>3</sup>). Uzorci su termostatirani na vodenom kupatilu na 37 °C uz mešanje na magnetnoj mešalici (Hanna Instruments, Magnetic stirrer HI 190M) tokom 48 h. Oslobođena količina kurkumina praćena je uzorkovanjem 200  $\mu$ l rastvora tokom vremena, koji su zatim dopunjeni metanolom do 1 cm<sup>3</sup>, filtrirani na celuloznom membranskom filteru promera pora 0,45  $\mu$ m i analizirani primenom HPLC metode (3.3.6).

Kinetika oslobađanja kurkumina iz matriks sistema procenjena je primenom različitih matematičkih modela (Higuchi, Korsmeyer–Peppas, Baker–Lonsdale) pomoću DDSolver paketa za Microsoft Excel aplikacije.

### **3.3 Metode analize i karakterizacije**

#### **3.3.1 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)**

FTIR spektri monomera, sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) kserogelova, kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina i fizičke smeše, kserogelova sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom snimljeni su tehnikom tankih transparentnih tableta sa kalijum bromidom spektroskopske čistoće, vakuumiranjem i presovanjem pod pritiskom od oko 200 MPa. Uzorci kserogelova usitnjeni su do praha i homogenizovani na amalgamatoru (WIG-L-BVG, 31210-3A, SAD). Za izradu tableta mereno je po 150 mg kalijum-bromida (KBr, 99%, Merck, Darmstadt, Nemačka) i po 0,7 mg ispitivanog uzorka. Umreživač EGDM snimljen je u obliku tankog filma između dve pločice od zink selenida (ZnSe). Snimanja su vršena na FTIR spektrofotometru BOMEM MB-100 (Hartmann & Braun, Kanada). Spektri su obrađeni primenom softvera Win-Bomem Easy.

#### **3.3.2 Liofilizacija**

Liofilizacija p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova nabubrelih do stanja ravnoteže se vrši na uređaju Freeze Dryers Rotational-Vacuum-Concentrator (GAMMA 1-16 LSC, Nemačka). Sintetisani hidrogelovi se najpre zamrzavaju na temperaturi od -40 °C tokom 24 h. U prvoj podfazi sušenja, količina rastvora se smanjuje sublimacijom na -30 °C i pritisku od 5 Pa tokom 12 h. U drugoj podfazi sušenja, tj. izotermnoj desorpciji, hidrogelovi se zagrevaju na 20 °C tokom 6 h na pritisku od 5 Pa, uz uklanjanje pare. Liofilizirani uzorci hidrogelova se pakuju pod vakuumom i čuvaju u frižideru na 5 °C.

### 3.3.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologija kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, liofiliziranih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova i hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom ispitana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. Usitnjeni uzorci su pre analize prekriveni legurom zlato/paladijum (15/85) pomoću raspršivača JEOL Fine Coat JFC 1100E Ion Sputter (JEOL Co., Japan) i snimani na uređaju JEOL Scanning Electron Microscope JSM-5300 (JEOL Co., Japan).

### 3.3.4 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC)

Za ispitivanje termičkih svojstava kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova i hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom korišćena je diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC). Uzorak (oko 3 mg) je stavljen u posudu, hermetički zatvoren poklopcem presovanjem i zagrevan u jednom ciklusu od sobne temperature do 250 °C brzinom od 10 °C/min u atmosferi azota. Za ovo ispitivanje korišćen je diferencijalni skenirajući kalorimetar TA Instruments Q20 (TA Instruments, Nev Castle, DE, SAD).

### 3.3.5 Difrakcija X-zraka (XRD)

XRD spektri kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, praznih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova i hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom snimljeni su pri sledećim uslovima: uzorci su ozračeni monohromatskim CuK $\alpha$  zračenjem ( $\lambda = 0,1542$  nm) i analizirani pod uglom  $2\theta$  između 5 i 75° sa korakom 0,05° i dužinom snimanja  $\tau=5$  s. U toku snimanja korišćeni su napon i jačina struje 40 kV i 20 mA, respektivno. Svi ispitivani uzorci snimljeni su difraktometru za prah Rigaku MiniFlex 600 (Rigaku, Tokyo, Japan).



### 3.3.6 Određivanje koncentracije rezidualnih jedinjenja i kurkumina pomoću tečne hromatografije visokih performansi (HPLC)

Sadržaj rezidualnih reaktanata (monomera i umreživača) u uzorcima sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova određen je primenom HPLC metode. Uzorak za HPLC analizu pripremljen je ekstrakcijom hidrogela pomoću metanola tokom 168 h. Metanolni ekstrakti su filtrirani na celulozni membranski filter prečnika pora 0,45  $\mu\text{m}$  i podvrgnuti analizi. Analiza je izvršena na uređaju HPLC Agilent 1100 Series (Waldborn, Nemačka) sa diode-array detector, DAD 1200 Series. Uslovi izvođenja hromatografije: kolona Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, SAD); temperatura 25  $^{\circ}\text{C}$ ; injektirana zapremina uzoraka 10  $\mu\text{l}$ ; talasna dužina detekcije 210 nm; mobilna faza je smeša metanol/redestilovana voda 70/30, v/v; protok mobilne faze 0,5  $\text{cm}^3/\text{min}$ . Dobijeni rezultati su obrađeni softverom Agilent Chemstation.

Određivanje količine kurkumina koja nije inkorporirana u hidrogelove kao i praćenje oslobađanja kurkumina iz hidrogelova vršeno je metodom tečne hromatografije HPLC pod sledećim uslovima: kolona Zorbax Eclipse XDB-CN 250  $\times$  4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, SAD); eluent je metanol; protok mobilne faze 1  $\text{cm}^3/\text{min}$ ; zapremina injektiranih uzoraka 20  $\mu\text{l}$ ; temperatura kolone 40  $^{\circ}\text{C}$ ; talasna dužina detekcije 425 nm. Dobijeni spektri su obrađeni primenom softvera Agilent ChemStation. Uzorak za HPLC pripremljen je uzorkovanjem 200  $\mu\text{l}$  rastvora tokom vremena, koji su zatim dopunjeni metanolom do 1  $\text{cm}^3$ , filtrirani na celuloznom membranskom filteru prečnika pora 0,45  $\mu\text{m}$  i analizirani primenom HPLC metode.

### 3.3.7 Bubrenje hidrogelova

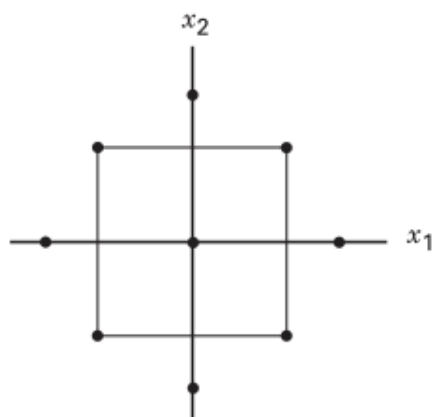
Bubrenje sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelova praćeno je gravimetrijski. Određena količina p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelova uronjena je u vodeni rastvor određene pH vrednosti i temperature, a potom je merena masa uzoraka u određenim vremenskim intervalima do postizanja ravnoteže, tj. do postizanja konstantne mase hidrogelova. Step en bubrenja hidrogelova,  $\alpha_t$ , određuje se na osnovu mase uzorka pre i posle bubrenja prema jednačini 1.

Bubrenje p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelova praćeno je u rastvorima pH vrednosti (4, 7 i 8) i na temperaturama (25, 37, 60 i 80 °C). Vodeni medijumi za bubrenje pripremljeni su podešavanjem pH vrednosti dodatkom 0,1 M rastvora natrijum hidroksida (Centrohem, Beograd, Srbija) ili 0,1 M rastvora hlorovodonićne kiseline (Zorka, Šabac, Srbija) na pH metru (HI9318-HI9219, Hanna, Portugal). Termoosetljivost hidrogelova ispitana je u temperaturnom opsegu od 25 do 80 °C u vodenom kupatilu (Sutjeska, Beograd, Srbija).

### 3.3.7.1 Modelovanje procesa bubrenja eksperimentalnim dizajnom

Eksperimentalni dizajn odnosno metodologija površine odgovora (Response Surface Methodology, RSM) predstavlja metodu vođenja i analize eksperimenta, što ima za cilj dobijanje matematićkih i statistićkih modela koji ukazuju na vezu između odgovora sistema ( $Y$ ) i nezavisno promenljivih tj. faktora ( $X$ ) (Telford, 2007; Khuri i Mukhopadhyay, 2010). Pomenutim modelovanjem na osnovu eksperimentalnih podataka urađenih prema planu dizajna moće se optimizovati tehnološki proces.

U ovoj doktorskoj disertaciji primenjen je eksperimentalni dizajn u cilju optimizacije procesa bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova u zavisnosti od procesnih promenljivih (faktora), temperature i sastava kopolimernih hidrogelova. Analizom dobijenih eksperimentalnih rezultata potvrđena je temperaturna osetljivost sintetisanih kopolimernih hidrogelova, ali je bilo potrebno ustanoviti da li i sastav kopolimera ima znaćajan uticaj na odzivnu velićinu, ravnotećni stepen bubrenja,  $\alpha_e$ . Skringing dizajn je ukazao na znaćajnost procesnih nezavisno promenljivih, temperature i sastava kopolimera. Uticaj procesnih faktora na odgovor sistema je određen i optimizovan centralnim kompozitnim dizajnom (CCD). Ovaj dizajn obuhvata taćke punog ili frakcionog faktorijalnog dizajna, aksijalne i centralne taćke. Svaka promenljiva faktorijalnog dizajna se ispituje na dva nivoa, kodirani nivoi +1 i -1. Centralna taćka je srednja vrednost faktora dizajna, dok su aksijalne taćke identićne centralnoj taćki samo sa rastojanjem  $\pm \alpha$  u svim pravcima koordinatnog sistema (Hafizi, 2013; Lundstedt, 1998; Khayet, 2010). Na slici 11 prikazan je centralni kompozitni dizajn sa dva faktora.



Slika 11. Centralni kompozitni dizajn sa dve promenljive sistema (Montgomery, 2012)

Nivoi faktora kod ravnotežnog bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova dati su u tabeli 7. Broj kodiranog sastava kopolimernih hidrogelova označava procentualni molski sadržaj monomera NiPMAM-a, na primer 10 mol% ukazuje da je molski odnos monomera NiPMAM:NiPAm prilikom sinteze kopolimera bio 10/90. Vrednost  $\alpha$  u slučaju bubrenja sintetisanih hidrogelova bila je 2.

Tabela 7. Vrednosti nivoa za nezavisne promenljive za ravnotežno bubrenje kopolimernih p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

Faktor	Kod.	Nekod.	Nivo				
			-2	-1	0	+1	+2
Temperatura (°C)	$X_1$	$t$	25	30	35	40	45
Sadržaj NiPMAM (mol%)	$X_2$	Sadržaj NiPMAM	10	30	50	70	90

Potreban broj eksperimenata za modelovanje procesa ovim dizajnom izračunava se po jednačini  $N = k^2 + 2k + c_p$ . U jednačini  $c_p$  predstavlja broj centralnih tačaka, a  $k$  broj faktora (Sharif, 2014), stoga je za 2 faktora i 5 centralnih tačaka za modelovanje procesa ravnotežnog bubrenja hidrogelova potrebno uraditi 13 eksperimenata.

Analizom varijanse odnosno ANOVA testom procenjena je adekvatnost modela kao i statistička značajnost nezavisno promenljivih u modelu. Dobijeni eksperimentalni podaci po CCD planu su analizirani softverom Design-Expert, verzija 7.0.0 (Stat-Ease Inc., Minnesota, SAD).

### 3.3.8 Nuklearna magnetna rezonanca ( $^1\text{H-NMR}$ )

$^1\text{H-NMR}$  spektri 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina snimljeni su na aparatu Bruker Avance III NMR, 400 MHz (BRUKER AXS GmbH, Karlsruhe, Nemačka) u staklenoj kivetici prečnika 5 mm na sobnoj temperaturi pulsnom metodom, sa višestrukim ponavljanjem pulseva. Uzorci su rastvoreni u deuterisanoj vodi ( $\text{D}_2\text{O}$ ) i tretirani su u ultrazvučnom kupatilu 25 minuta pre snimanja.

### 3.3.9 Spektrofotometrija u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti (UV-Vis)

UV-Vis spektri snimani su na spektrofotometru Varian Cary-100 Conc. u oblasti talasnih dužina od 200-800 nm. Snimanje uzoraka vršeno je u kvarcnim kivetama ( $1 \times 1 \times 4,5$  cm) na sobnoj temperaturi, u odnosu na destilovanu vodu kao kontrolu.

### 3.3.10 Fazna rastvorljivost

Ispitivanje fazne rastvorljivosti sprovedeno je primenom metode koju su opisali Higuchi i Connors (Higuchi i Connors, 1965). Višak kurkumina (po 10 mg) dodat je u  $2,5 \text{ cm}^3$  vodenog rastvora 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina koncentracije 0 – 10 mmol/dm<sup>3</sup>. Uzorci su mešani na sobnoj temperaturi 24 h, a zatim filtrirani kroz membranski filter prečnika pora 0,45  $\mu\text{m}$  (Econofilters, Agilent Technologies, Waldborn, Nemačka). Količina rastvorenog kurkumina se određuje primenom UV/Vis metode (odjeljak 3.3.9) na osnovu konstruisane kalibracione krive. Merenja su izvršena na talasnoj dužini od 429 nm, na sobnoj temperaturi. Destilovana voda je korišćena kao slepa proba. Prisustvo 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ne ometa apsorbanču kurkumina na 429 nm, jer je njegova apsorpcija na toj talasnoj dužini jednaka nuli. Konstanta stabilnosti ( $K_{1:1}$ ) inkluzionog kompleksa se računa na osnovu dijagrama fazne rastvorljivosti prema jednačini 7 (Odeljak 2.2.4).

### 3.3.11 Antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

#### 3.3.11.1 DPPH test

Za određivanje sposobnosti jedinjenja da hvata slobodne radikale, korišćeno je svojstvo dekolorizacije stabilnog 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikala u prisustvu antioksidanta. Pripremljene su serije rastvora različitih koncentracija kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (0,00049-0,25 mg/cm<sup>3</sup>) u etanolu. Etanolni rastvori kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina zaštićeni su od svetlosti.

Etanolni rastvor DPPH radikala (1 cm<sup>3</sup>, koncentracije  $3 \times 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>) dodat je u 2,5 cm<sup>3</sup> pripremljenih rastvora kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Apsorbanca je merena na 517 nm nakon 20 minuta inkubacije sa radikalom, na sobnoj temperaturi. Apsorbanca je takođe određena i za etanolni rastvor DPPH radikala (1 cm<sup>3</sup> DPPH radikala i 2,5 cm<sup>3</sup> etanola) i za etanolni rastvor kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (2,5 cm<sup>3</sup> rastvora i 1 cm<sup>3</sup> etanola). Kapacitet uklanjanja slobodnih radikala izračunat je prema jednačini 9:

$$\text{Kapacitet neutralisanja DPPH radikala (\%)} = 100 - [(A_U - A_B) \times \frac{100}{A_K}] \quad (9)$$

gde je:  $A_U$  - Apsorbancija uzorka (etanolni rastvor uzorka tretiran DPPH radikalom) na 517 nm;  $A_B$  - Apsorbancija blank-a (etanolni rastvor uzorka koji nije tretiran DPPH radikalom) na 517 nm;  $A_K$  - Apsorbancija kontrole (razblaženi etanolni rastvor DPPH radikala) na 517 nm.

Sve apsorbancije su merene na UV-Vis Varian Cari100 Conc. spektrofotometar. Eksperimenti su izvedeni u tri primerka i izraženi kao srednja vrednost.

### 3.3.11.2 ABTS test

Antioksidativna aktivnost čistog kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinu određena je primenom modifikovanog ABTS testa (Re i sr., 1999). ABTS katjon radikal ( $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ) nastaje u reakciji ABTS rastvora ( $7 \times 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>) i kalijum persulfata (2,4 mM) u zapreminskom odnosu 1:1 v/v, u toku 12-18 h, na tamnom, na 4 °C (osnovni rastvor). Nakon formiranja radikala, napravljen je radni ABTS rastvor tako što je osnovni rastvor razblažen etanolom do postizanja vrednosti apsorbance 0,7 na 734 nm.

Pripremljena je serija etanolnih rastvora različitih koncentracija kurkumina (0,25-0,0039 mg/cm<sup>3</sup>) i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (0,5-0,0039 mg/cm<sup>3</sup>). Etanolni rastvori kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina zaštićeni su od svetlosti. U 0,1 cm<sup>3</sup> pripremljenih rastvora kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina dodato je po 1,8 cm<sup>3</sup> ABTS radnog rastvora i 2,1 cm<sup>3</sup> etanola i merena apsorbance reakcione smeše na 734 nm (to je vrednost  $A_U$ ), nakon 6 minuta inkubacije na tamnom na sobnoj temperaturi. Apsorbance na 734 nm izmerena je za razblaženi ABTS radni rastvor (1,8 cm<sup>3</sup> radnog rastvora ABTS radikala razblaženo je dodatkom 2,2 cm<sup>3</sup> etanola, ovo je vrednost  $A_k$ ) i za rastvore kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina pre tretiranja ABTS radikalom (3,9 cm<sup>3</sup> etanola dodato je u 0,1 cm<sup>3</sup> rastvora uzoraka, vrednost  $A_B$ ). Etanol je korišćen kao slepa proba. Procenat neutralizacije ABTS radikala izračunat je korišćenjem jednačine 9.

### 3.3.11.3 FRAP test

Za određivanje antioksidativne aktivnosti kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin korišćen je FRAP test po metodi Benzie-a i Strain-a (Benzie i Strain, 1996) sa izvesnim modifikacijama.

Standardna kriva: FRAP reagens priprema se mešanjem acetatnog pufera (300 mmol/dm<sup>3</sup>, pH = 3,6), TPTZ reagens (10 mmol/dm<sup>3</sup> u 40 mmol/dm<sup>3</sup> HCl) i  $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$  (20 mmol/dm<sup>3</sup>) u odnosu 10:1:1. U pet epruveta dodato je po 3 cm<sup>3</sup> FRAP reagens i po 0,1 cm<sup>3</sup> standardnog rastvora  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2-1 mmol/dm<sup>3</sup>). Apsorbance je merena na 593 nm u odnosu na slepu probu (3 cm<sup>3</sup> FRAP reagens i 0,1 cm<sup>3</sup> vode).

Kalibraciona kriva konstruisana je kao zavisnost apsorbance od poznate koncentracije rastvora  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  (Stanojević i sar., 2015).

Metoda određivanja antioksidativne aktivnosti uzoraka: U epruvete je dodato po 0,1  $\text{cm}^3$  rastvora kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (0,125  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ) i 3  $\text{cm}^3$  FRAP reagensa i nakon 30 minuta inkubacije na 37 °C u vodenom kupatilu izmerena je apsorbance na 593 nm. Iz jednačine kalibracione krive (10) određena je koncentracija  $\text{Fe}^{2+}$  u uzorcima ( $\text{mmol}/\text{dm}^3$ ) i preračunata na  $\text{mg Fe}^{2+}/\text{g}$  uzorka, tj. FRAP vrednost. Veća FRAP vrednost ukazuje na bolju redukcionu sposobnost uzorka.

$$A = 0,00495 + 0,65743 \times c \quad (10)$$

### 3.3.12 Antimikrobna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina vršeno je protiv humanih patogenih sojeva iz referentne ATCC kolekcije (American Type Culture Collection): Gram (-) bakterija - *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 i *Salmonella enteritidis* ATCC 13076); Gram (+) bakterija - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6301, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 i *Bacillus cereus* ATCC 11778 i kvasca *Candida albicans* ATCC 24433.

#### Mikro-diluciona metoda

*In vitro* antimikrobna aktivnost kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ispitana je upotrebom *mikro-dilucione metode* sa izvesnim modifikacijama (CLSI, 2012).

Prekonoćne kulture mikrobnih sojeva su kultivisane u odgovarajućim uslovima - bakterije na 37 °C na Miler-Hinton agaru (MHA), a kvasac na 30 °C na saburo-dekstroznom agaru (SDA). Od prekonoćnih kultura bakterija i kvasca su u sterilnom fiziološkom rastvoru (0,9% NaCl) pripremljene suspenzije turbiditeta 0,5 McFarlanda (što odgovara  $10^8$  CFU/ $\text{cm}^3$ ). Tako dobijenim suspenzijama su zasejane odgovarajuće hranljive podloge – Miler-Hinton bujon za bakterijske sojeve i saburo-dekstrozni bujon za kvasce, u mikrotitar pločama sa 96 udubljenja.

Od početnih rastvora uzoraka kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (u 100%-nom DMSO-u) su u mikrotitar pločama napravljene serije razblaženja u koncentracijama od 0,003-25,0 mg/cm<sup>3</sup>.

U svakom bunariću mikrotitar ploče bila je ukupna zapremina 100  $\mu$ L, a finalna koncentracija mikrobnih ćelija je iznosila 10<sup>6</sup> CFU/cm<sup>3</sup>. Mikrotitar ploče su kultivisane na 37 °C (za bakterije), odnosno na 30 °C (za kvasce) tokom 24 h. Kao negativna kontrola je korišćena serija razblaženja čistog rastvarača (DMSO), a kao pozitivne kontrole su korišćene serije razblaženja antibiotika (0,02-10  $\mu$ g/cm<sup>3</sup>) - tetraciklina i streptomycina (za bakterije) i nistatina (za kvasce). Inhibitorna aktivnost uzoraka je određena metodom vidljivog rasta tj. dodavanjem 20  $\mu$ l 0,5% vodenog rastvora trifenil tetrazolijum hlorida (TTC) u svaki bunarić na mikrotitar ploči.

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) je definisana kao najniža koncentracija uzoraka koja je inhibirala vidljivi rast mikroorganizama (pojava crvene boje nakon dodavanja TTC). Da bi se odredile minimalne baktericidne/fungicidne koncentracije (MBC/MFC), iz svakog bunarića je sadržaj prenešen na Petri ploče sa odgovarajućim podlogama i inkubiran pod opisanim specifičnim uslovima za testirane mikrobnje sojeve. MBC/MFC se definiše kao najniža koncentracija ispitivanih uzoraka pri kojoj su inokulisani mikroorganizmi ubijeni 99,9%. Svi eksperimenti su izvedeni u tri ponavljanja.

### **Statistička obrada podataka**

Za ove analize primenjena je statistička analiza korišćenjem analize varijanse (ANOVA) za određivanje značajnosti ( $p \leq 0,05$ ) podataka dobijenih u svim eksperimentima. Utvrđeno je da su svi rezultati unutar nivoa pouzdanosti od 95% za reproduktivnost eksperimenta.



### **3.3.13 Analiza teksture Karbopol<sup>®</sup> gela sa kurkuminom i inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom**

Analiza profila teksture je tehnika koja se intenzivno koristi za mehaničku karakterizaciju pre svega prehrambenih proizvoda, ali i za farmaceutske i kozmetičke proizvode (Carvalho i sar., 2013). Teksturna svojstva formulacije su važan parametar u optimizaciji formulacija za lokalnu primenu, njihove primenljivosti na mestu aplikacije, što skupa utiče na ishod terapije (Hurler i sar., 2012). Princip rada teksturnog analizatora koji se koristi u ove svrhe zasniva se na uranjanju sonde u uzorak uz simultano merenje sila kojom sonda deluje na preparat, rastojanja koje sonda pređe prilikom uranjanja u preparat i vremena potrebnog za kretanje. Na osnovu izmerenih parametara, generiše se grafik zavisnosti sile od pređenog rastojanja sa kojeg se dalje mogu interpretirati podaci i dobiti vrednosti mehaničkih parametara (Fossa Shirata i Campos, 2017).

Teksturna svojstva uzoraka ispitana su korišćenjem teksturometra CT3 Texture Analyzer (Brookfield, AMETEK Inc., SAD) i konusne sonde TA-STF primenom testa za analizu profila teksture (TPA). Parametri analize su:

- Merna ćelija: 10 kg
- Brzina sonde: 1,5 mm/s
- Deformacija: 5 mm
- Početno opterećenje: 50 mN.

Uzorci su stavljeni u posude za uzorke (75% od ukupne zapremine posude je napunjeno, bez prisustva vazduha). Tokom TPA testa izvršena su dva ciklusa kompresije na uzorke i merena su pet profila teksture: čvrstina, kohezivnost, adhezivnost, rezilijentnost i elastičnost. Za svaki uzorak su urađena tri merenja na sobnoj temperaturi.

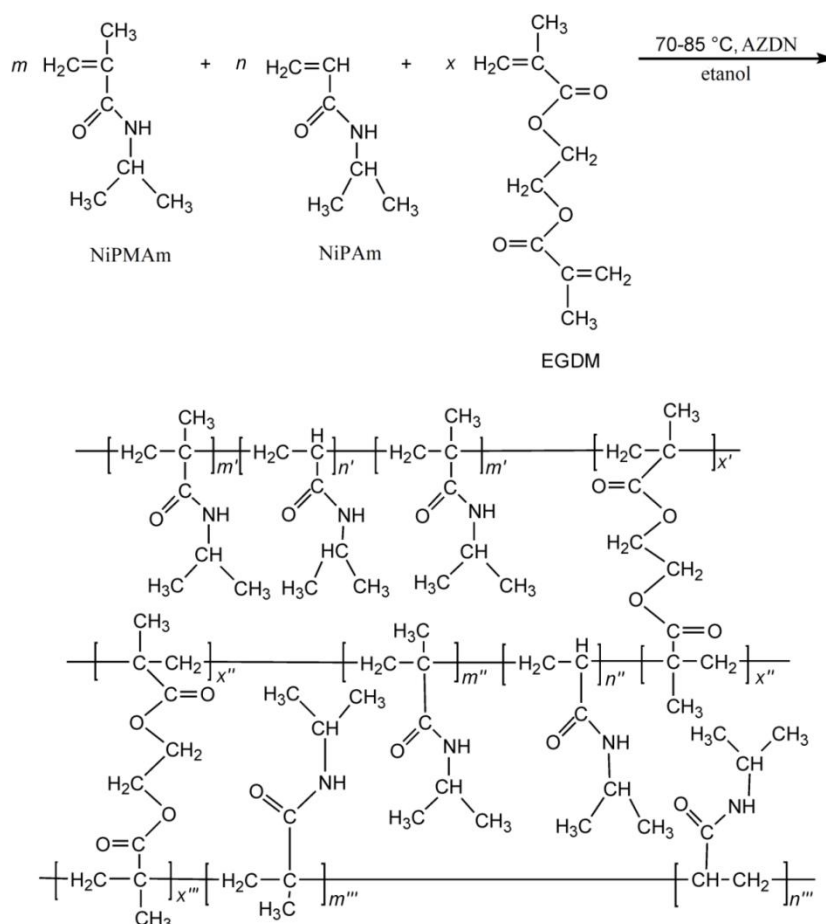
#### **Statistička obrada podataka**

Za ove analize primenjena je statistička analiza korišćenjem softverskog paketa IBM SPSS Statistics 22 za određivanje značajnosti ( $p \leq 0,05$ ) podataka dobijenih u svim eksperimentima.

## 4 REZULTATI I DISKUSIJA

### 4.1 Sinteza p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Kopolimerni p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi sintetisani su mehanizmom radikalne polimerizacije monomera NiPMAm-a i komonomera NiPAm-a uz primenu inicijatora AZDN-a i umreživača EGDM-a. Reakcija polimerizacije inicirana je radikalima dobijenim razgradnjom AZDN-a na temperaturi 70-85 °C. Nastali primarni radikali u fazi iniciranja reaguju sa molekulima monomera i umreživača i stvaraju makroradikale. U reakciji polimerizacije nastaje kopolimer p(NiPMAm-ko-NiPAm) umrežene strukture što je šematski prikazano na slici 12.



Slika 12. Šematski prikaz reakcije sinteze i moguće strukture p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelovi sa različitim sadržajem monomera i umreživača strukturno su okarakterisani pre i posle inkorporiranja inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin primenom FTIR, SEM, XRD i DSC metode.

#### 4.1.1 FTIR analiza

Na slici 13 prikazani su FTIR spektri monomera NiPMAM-a, komonomera NiPAM-a, umreživača EGDM-a i sintetisanog p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogela 10/90/2.

U FTIR spektru monomera NiPMAM-a (slika 13a) apsorpciona traka na  $3291\text{ cm}^{-1}$  je rezultat valencionih N-H vibracija. Asimetrične valencione vibracije C-H veze iz vinilne grupe, daju traku sa maksimumom na  $3061\text{ cm}^{-1}$ . Apsorpcione trake na  $2973$  i  $2878\text{ cm}^{-1}$  potiču od asimetričnih i simetričnih valencionih vibracija metil grupa u strukturi monomera NiPMAM-a, redom. Dokaz prisustva amidne grupe u strukturi monomera su apsorpcione trake sa maksimumima na  $1653\text{ cm}^{-1}$  (amidna traka I) i  $1539\text{ cm}^{-1}$  (amidna traka II). Amidna traka I se pripisuje valencionim vibracijama keto grupe, dok amidna traka II nastaje kuplovanjem N-H deformacionih vibracija i valencionih C-N vibracija. Valencione vibracije C=C veze u FTIR spektru monomera NiPMAM-a (slika 13a) daju apsorpcionu traku sa maksimumom na  $1606\text{ cm}^{-1}$ . Apsorpciona traka od deformacionih C-H vibracija u ravni  $\text{CH}_3\text{-C}$  grupe u spektru monomera prisutna je na  $1459\text{ cm}^{-1}$ . Deformacione vibracije C-H veze izopropil grupe daju apsorpcionu traku sa maksimumom na  $1363\text{ cm}^{-1}$ . Prisustvo izopropil grupe u strukturi monomera potvrđuje i postojanje apsorpcionih traka na  $1157$  i  $1011\text{ cm}^{-1}$ .

U FTIR spektru komonomera NiPAM-a u oblasti talasnih brojeva iznad  $3000\text{ cm}^{-1}$  (slika 13b) uočavaju se dve apsorpcione trake različitog inteziteta. Apsorpciona traka jakog inteziteta sa maksimumom na  $3295\text{ cm}^{-1}$  se pripisuje valencionim vibracijama sekundarne amino grupe što je u saglasnosti sa istraživanjima drugih istraživača (Rwei i sar., 2016), dok je apsorpciona traka na  $3073\text{ cm}^{-1}$  rezultat asimetričnih valencionih vibracija vinilne grupe. U FTIR spektru komonomera NiPAM-a (slika 13b) apsorpcione trake sa maksimumima na  $2971\text{ cm}^{-1}$  i  $2876\text{ cm}^{-1}$  potiču od asimetričnih i simetričnih valencionih vibracija C-H veza iz metil grupa, redom. Apsorpciona traka srednjeg intenziteta sa maksimumom na  $2934\text{ cm}^{-1}$  potiče od asimetričnih valencionih vibracija C-H veza u izopropil grupi NiPAM-a. Amidne trake I, II i III sa maksimumima na  $1659\text{ cm}^{-1}$ ,  $1549\text{ cm}^{-1}$ ,  $1310\text{ cm}^{-1}$ , redom, potvrđuju prisustvo amidne grupe u molekulu NiPAM-a (Tang i sar., 2018).

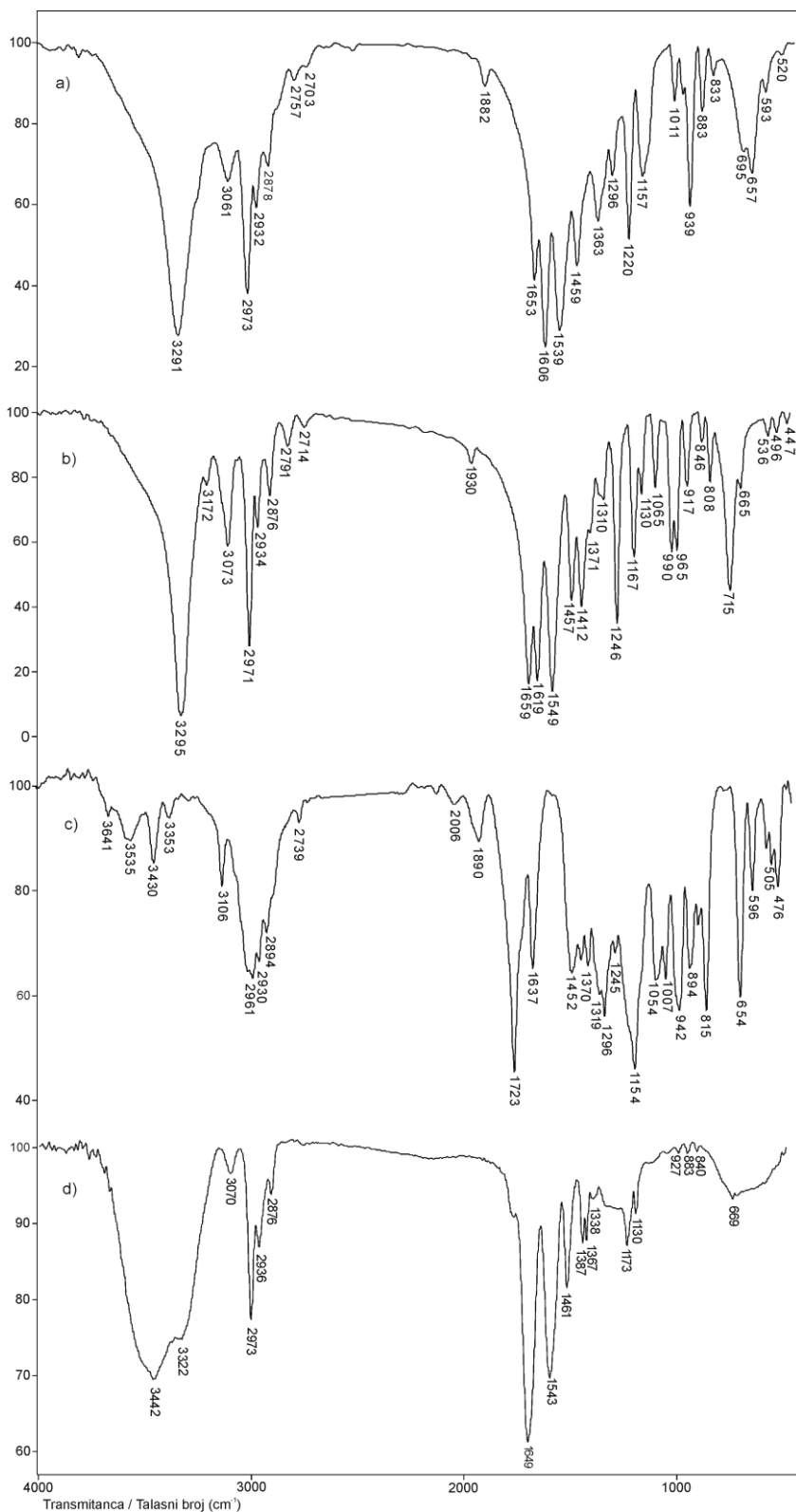
Valencione vibracije C=C veze u FTIR spektru monomera NiPAm-a (slika 13b) daju apsorpcionu traku sa maksimumom na  $1619\text{ cm}^{-1}$ . Apsorpciona traka srednjeg intenziteta na  $1371\text{ cm}^{-1}$  odgovara deformacionim vibracijama C-H veze u izopropil grupi NiPAm-a. Traka jakog intenziteta sa maksimumom na  $1167\text{ cm}^{-1}$  u spektru komonomera takođe potvrđuje prisustvo izopropil grupe u strukturi NiPAm-a.

Prisustvo vinilne grupe u strukturi komonomera potvrđuje pojava traka koje potiču od deformacionih vibracija u ravni C-H veze na  $1412\text{ cm}^{-1}$  i deformacionih vibracija van ravni C-H veze na  $990$  i  $917\text{ cm}^{-1}$  (Tang i sar., 2018).

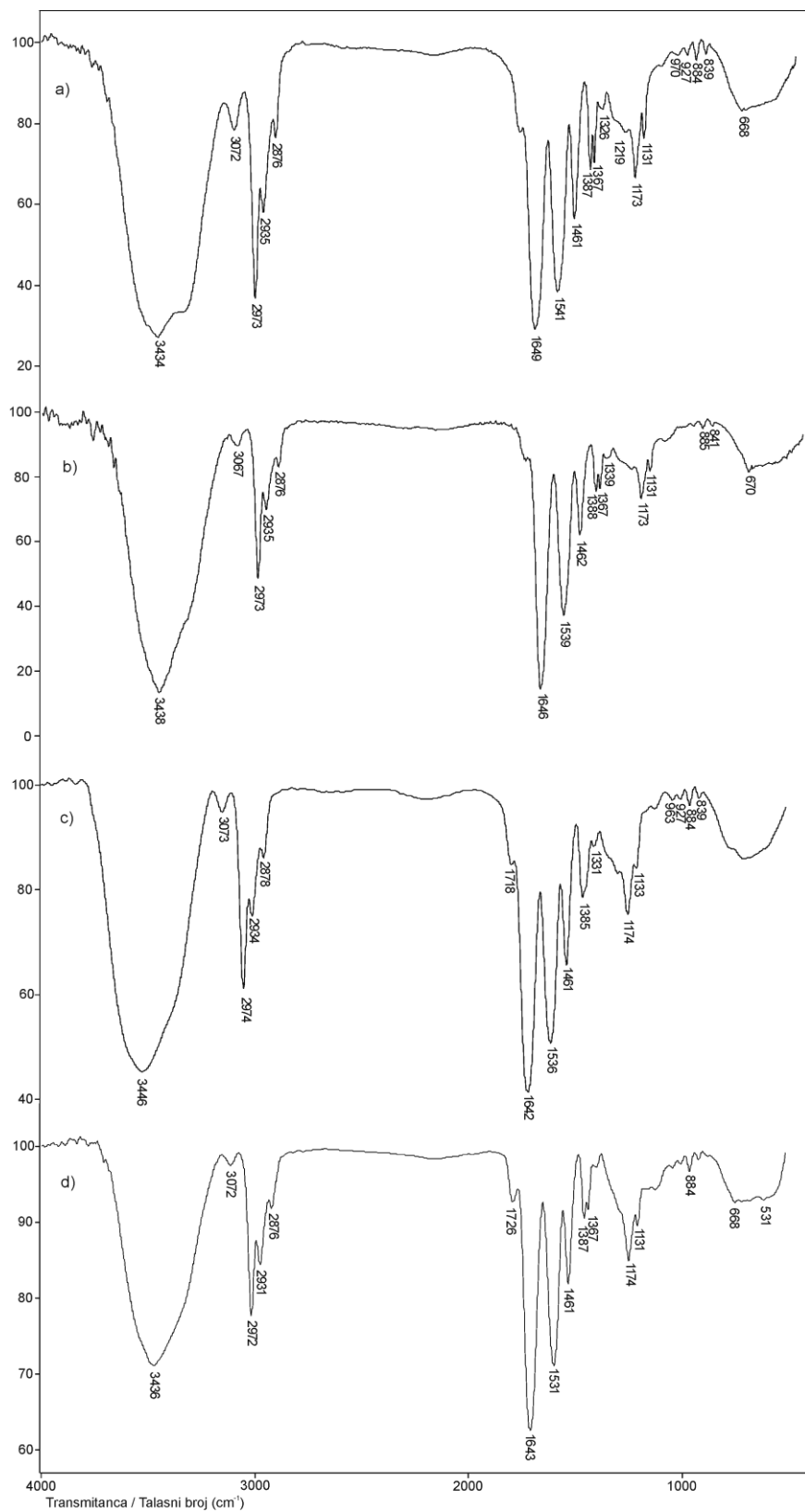
U FTIR spektru umreživača EGDM-a (slika 13c) postoje trake karakteristične za estarske i vinilne funkcionalne grupe prisutne u molekulu. Oštra apsorpciona traka jakog intenziteta sa maksimumom na  $1723\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru EGDM-a, potiče od valencionih vibracija karbonilne grupe, koja je konjugovana sa dvostrukom vezom, zbog čega se traka srednjeg intenziteta, koja potiče od valencionih vibracija C=C veze zapaža na  $1637\text{ cm}^{-1}$ . Valencione vibracije C-O veze daju traku sa maksimumom apsorpcije na  $1154\text{ cm}^{-1}$ . U FTIR spektru umreživača EGDM-a prisutne su i trake sa maksimumima na  $2894\text{ cm}^{-1}$  od simetričnih valencionih vibracija C-H veze metil grupe, na  $2961\text{ cm}^{-1}$  od asimetričnih valencionih vibracija C-H veze metil grupe i na  $3106\text{ cm}^{-1}$  od asimetričnih valencionih vibracija C-H veze vinilne grupe što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (Zdravković i sar., 2017).

U poređivanjem FTIR spektra kopolimera p(NiPMAm-ko-NiPAm) 10/90/2 (slika 13d) sa spektrima monomera NiPMAm-a (slika 13a), i NiPAm-a (slika 13b) uočava se jasna razlika, koja ukazuje na razliku u strukturi između sintetisanog kopolimera i početnih reaktanata. Zapaženo je pomeranje i odsustvo pojedinih apsorpcionih traka od karakterističnih funkcionalnih grupa monomera što ukazuje na nastajanje nove strukture. Široka apsorpciona traka jakog intenziteta od valencionih vibracija N-H veze u FTIR spektru kopolimera na  $3442\text{ cm}^{-1}$  pomerena je ka višim talasnim brojevima u odnosu na istu traku u FTIR spektru monomera NiPMAm-a (slika 13a) i komonomera NiPAm-a (slika 13b). Pomeranje centroida ove trake ukazuje na učestvovanje amino grupe u građenju vodonične veze. U prilog ovoj činjenici ide i pomeranje amidne trake II u odnosu na položaj iste u FTIR spektrima monomera. Apsorpciona traka u kopolimeru koja se pripisuje valencionim vibracijama C=O grupe (amidna traka I) javlja se na  $1649\text{ cm}^{-1}$  i pomerena je ka nižim talasnim brojevima u poređenju sa trakom u FTIR spektrima NiPMAm-a i NiPAm-a za 4 i 10 jedinica, redom.

Apsorpcione trake na  $1387$  i  $1367\text{ cm}^{-1}$  potvrđuju prisustvo izopropil grupe u strukturi kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM) i ukazuju da ova grupa koja je prisutna u strukturi monomera nije učestvovala u procesu polimerizacije. Odsustvo apsorpcione trake od valencionih vibracija C=C veze, a koja se kod monomera javlja u oblasti talasnih brojeva  $1600\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$  ukazuje jasno da je do reakcije polimerizacije monomera NiPMAM-a i NiPAM-a došlo raskidanjem dvostrukih veza. Apsorpciona traka koja potiče od asimetričnih valencionih vibracija vinilne grupe prisutna je u FTIR spektru kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM) sa maksimumom na  $3070\text{ cm}^{-1}$ , znatno je manjeg inteziteta i pomeren je za 9 jedinica ka višim, odnosno za 3 jedinice ka nižim talasnim brojevima u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru NiPMAM-a i NiPAM-a, što dodatno potvrđuje da se polimerizacija odigrava raskidanjem dvostruke veze.

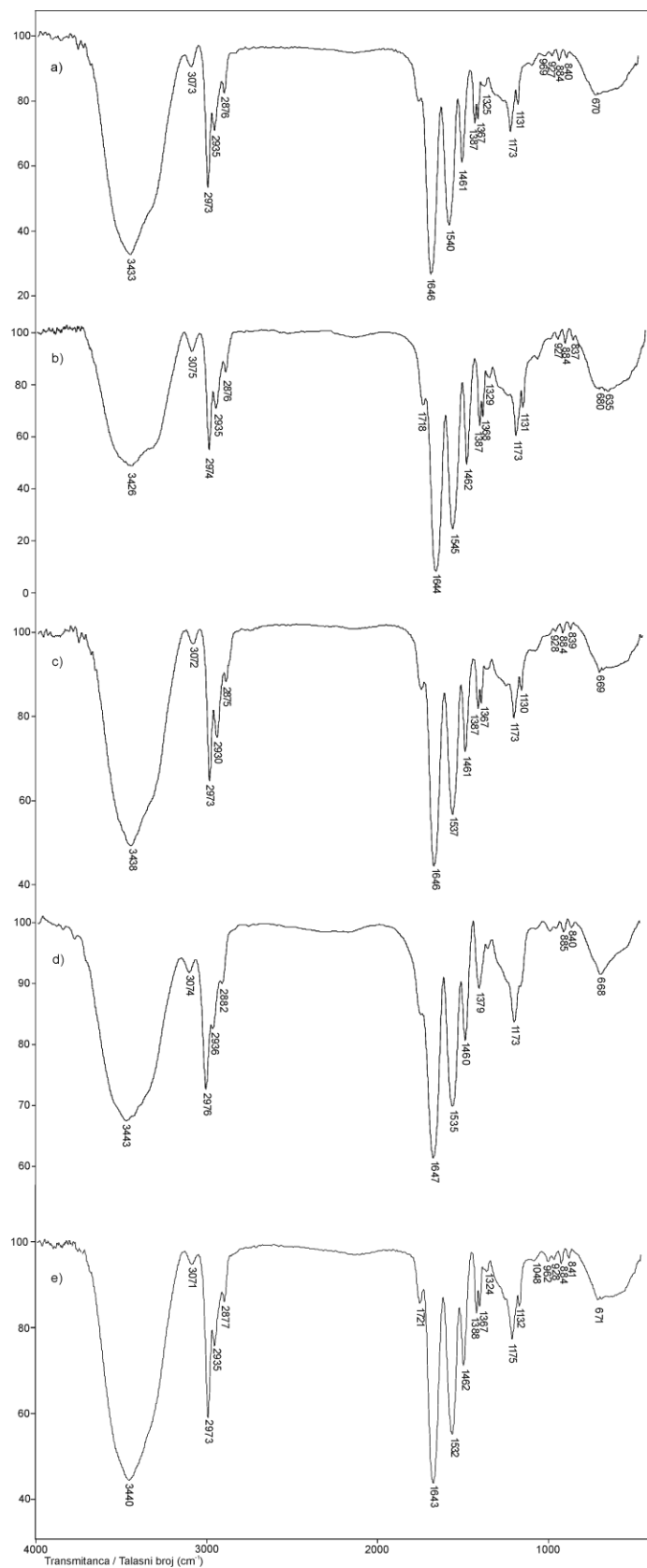


Slika 13. FTIR spektri: a) monomer NiPMam, b) komonomer NiPAm, c) umreživač EGDM i d) sintetisani p(NiPMam-ko-NiPAm) kopolimer 10/90/2



Slika 14. FTIR spektri p(NiPMam-ko-NiPAm) kopolimera sa 2 mol% EGDM-a:

a) 20/80/2, b) 30/70/2, c) 40/60/2 i d) 50/50/2



Slika 15. FTIR spektri p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa 3 mol% EGDM-a: a) 10/90/3, b) 20/80/3, c) 30/70/3, d) 40/60/3 i e) 50/50/3



FTIR spektri p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera 10/90, 20/80, 30/70, 40/60 i 50/50 sa 2 i/ili 3 mol% EGDM-a prikazani su na slikama 14 i 15, redom. U poređenom analizom FTIR spektara na slikama 14 i 15 sa FTIR spektrom na slici 13d zapaža se sličnost u strukturi sintetisanih kopolimera sa različitim sadržajem monomera i umreživača. Takođe, uočava se odsustvo apsorpcione trake od valencionih vibracija C=C veze, a koja se kod monomera NiPMAM-a i NiPAm-a javlja na 1609 i 1619  $\text{cm}^{-1}$ , redom, što potvrđuje da je do reakcije polimerizacije monomera NiPMAM-a i NiPAm-a došlo raskidanjem dvostrukih veza.

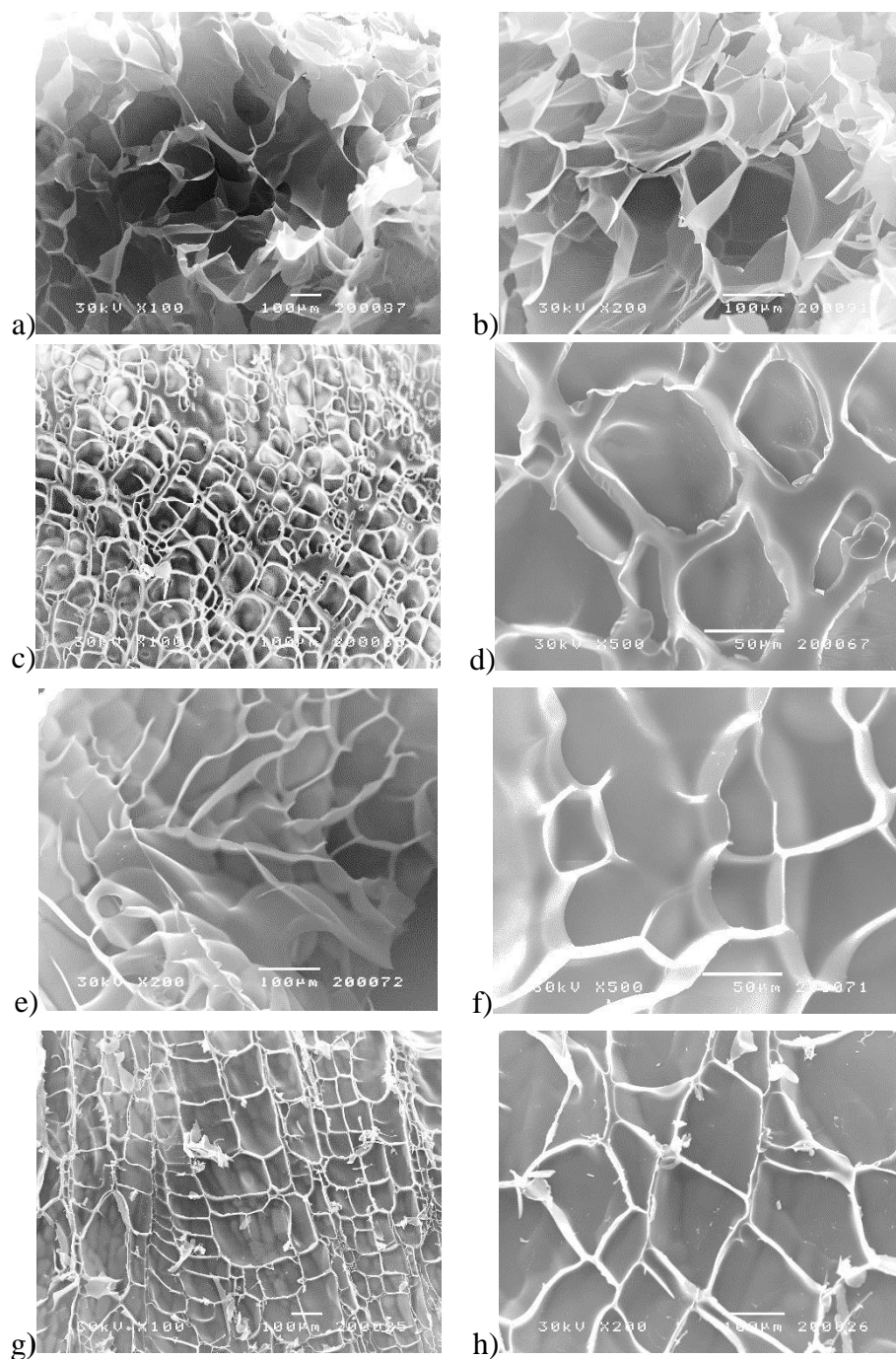
Analiza FTIR spektra ukazuje da je polimerizacija ostvarena, a da je pretpostavljena struktura p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera, prikazana na slici 12, realna.

FTIR spektri ostalih sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera dati su u Prilogu 1, jer su vrlo slični u poređenju sa FTIR spektrima na slici 14 i 15.

#### 4.1.2. SEM analiza

Morfologija sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera sa različitim sadržajem monomera i umreživača ispitana je primenom SEM metode. Uzorci p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera su nabubrela do ravnoteže u destilovanoj vodi, a zatim su liofilizirani da bi se bolje razumela morfologija. Dobijene SEM mikrografije sa različitim uvećanjem prikazane su na slici 16.

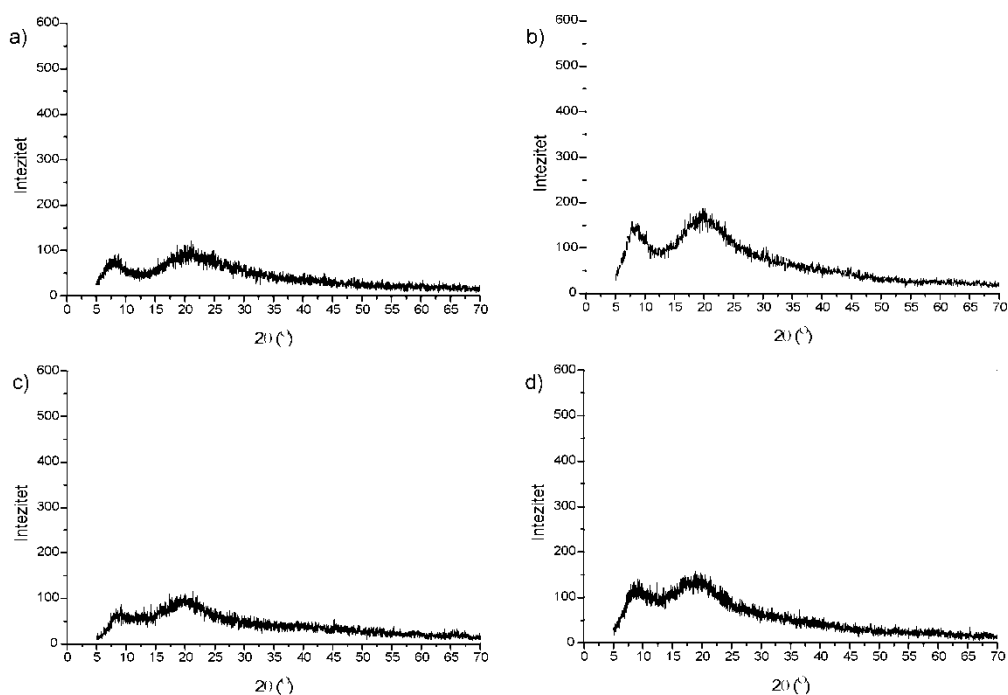
SEM mikrografije prikazane na slici 16 potvrđuju da sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimeri imaju poroznu strukturu. Trodimenzionalne mreže sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimera se razlikuju po rasporedu, obliku i veličini pora (promera 30-300  $\mu\text{m}$ ). Najuniformniju strukturu ima uzorak hidrogela p(NiPMAM-ko-NiPAm) 30/70/2 (slika 16c i d). Pore su pravilnog oblika, promera do 100  $\mu\text{m}$  sa debljim zidovima. U radu Gajić i saradnika sintetisan je makroporozni termoosetljivi p(NIPAM-co-AA) kopolimer sa veličinom pora do 100  $\mu\text{m}$  koji je iskorišćen kao nosač za modifikovano oslobađanje biohanina A (Gajić i sar., 2021). Najmanje uređena struktura se uočava kod uzorka p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogela 10/90/2 (slika 16a i b). Pore su nepravilnog oblika, tankih zidova, na pojedinim mestima međusobno spojene, promera od 100 do 300  $\mu\text{m}$ . Uzorci p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova 30/70/3 (slika 16e i f) i 50/50/3 (slika 16g i h) u svojoj strukturi sadrže pore nepravilnog oblika koje su na pojedinim mestima povezane, promera 30-300  $\mu\text{m}$ . Sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAm) kopolimeri sa ovako definisanom strukturom svrstavaju se u makroporozne hidrogelove koji se mogu iskoristiti kao nosači za različite biološki aktivne supstance.



Slika 16. SEM mikrografije p(NiPMAm-ko-NiPAm) kserogelova: a) 10/90/2 (uvećanje 100x, bar 100  $\mu\text{m}$ ), b) 10/90/2 (uvećanje 200x, bar 100  $\mu\text{m}$ ), c) 30/70/2 (uvećanje 100x, bar 100  $\mu\text{m}$ ), d) 30/70/2 (uvećanje 500x, bar 50  $\mu\text{m}$ ), e) 30/70/3 (uvećanje 200x, bar 100  $\mu\text{m}$ ), f) 30/70/3 (uvećanje 500x, bar 50  $\mu\text{m}$ ), g) 50/50/3 (uvećanje 100x, bar 100  $\mu\text{m}$ ), h) 50/50/3 (uvećanje 200x, bar 100  $\mu\text{m}$ )

### 4.1.3 XRD analiza

XRD spektri sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelova sa različitim sadržajem monomera i umreživača prikazani su na slici 17. Uporednom analizom XRD difraktograma kserogelova prikazanih na slici 17 uočava se visoka sličnost u pogledu oblika i položaja pikova. Sva četiri XRD difraktograma sadrže dva široka difrakciona pika niskog inteziteta. Sekundarni pik je uži i javlja se u opsegu  $2\theta = 5-10^\circ$ , dok je fundamentalni pik širok i javlja se u opsegu  $2\theta = 15-32,5^\circ$ , što je u skladu sa podacima objavljenim u literaturi (Ribeiro i sar., 2017; Zdravković i sar., 2017). Široki difrakcioni pikovi nemaju jasno definisane refleksije i ukazuju na niži stepen kristalnosti uzorka, tj. na amorfnu strukturu uzorka (Ribeiro i sar., 2017).

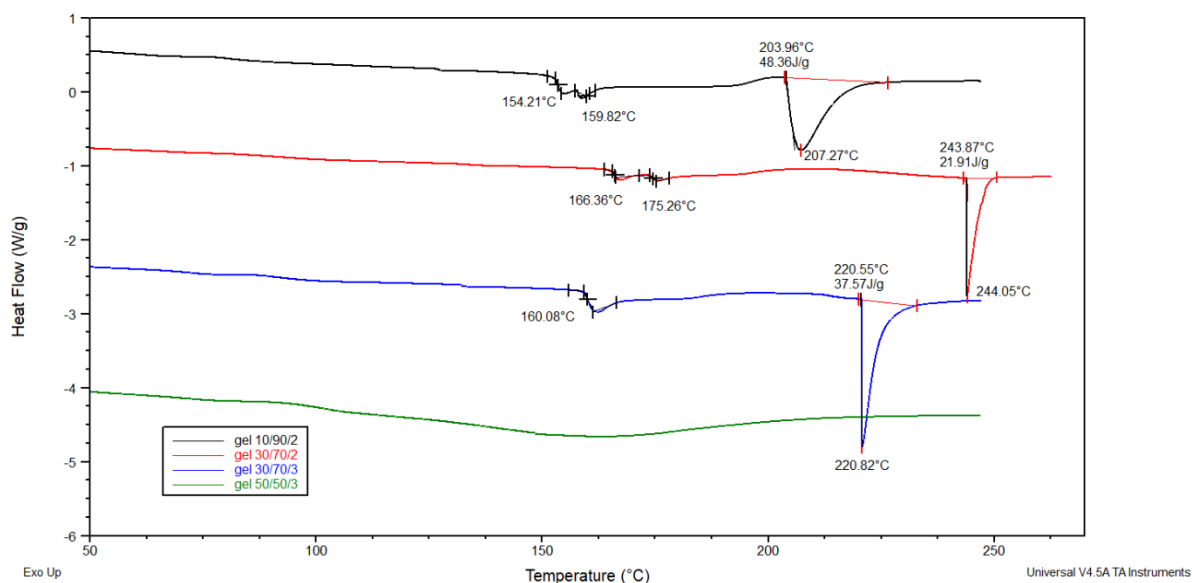


Slika 17. XRD difraktogrami p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelova: a) 10/90/2, b) 30/70/2, c) 30/70/3, d) 50/50/3

Rezultati XRD analize (slika 17) pokazuju da je struktura sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova amorfna.

#### 4.1.4 DSC analiza

DSC termogrami sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova (10/90/2, 30/70/2, 30/70/3 i 50/50/3) prikazani su na slici 18. Na DSC krivama se mogu videti dve vrste promena stanja gela sa promenom temperature. Jedna od temperaturnih promena stanja je ostakljivanje a druga vrsta promena je topljenje gelova. Sa slike se mogu očitati vrednosti temperatura ostakljivanja  $T_g$  i temperature topljenja  $T_m$  a vrednosti su prikazane u tabeli 8.



Slika 18. DSC krive sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Tabela 8. Vrednosti temperatura ostakljivanja  $T_g$  i temperatura topljenja  $T_m$  za izabrane sintetisane hidrogelove p(NiPMAm-ko-NiPAm).

Uzorak gela	Temperatura ostakljivanja, $T_g$ , °C	Temperatura početka topljenja, $T_{m_p}$ , °C	Temperatura vrha pika topljenja, $T_{m_{max}}$ , °C
10/90/2	154,21 159,82	203,96	207,27
30/70/2	166,36 175,26	243,87	244,05
30/70/3	160,08	220,55	220,82
50/50/3	-	-	-

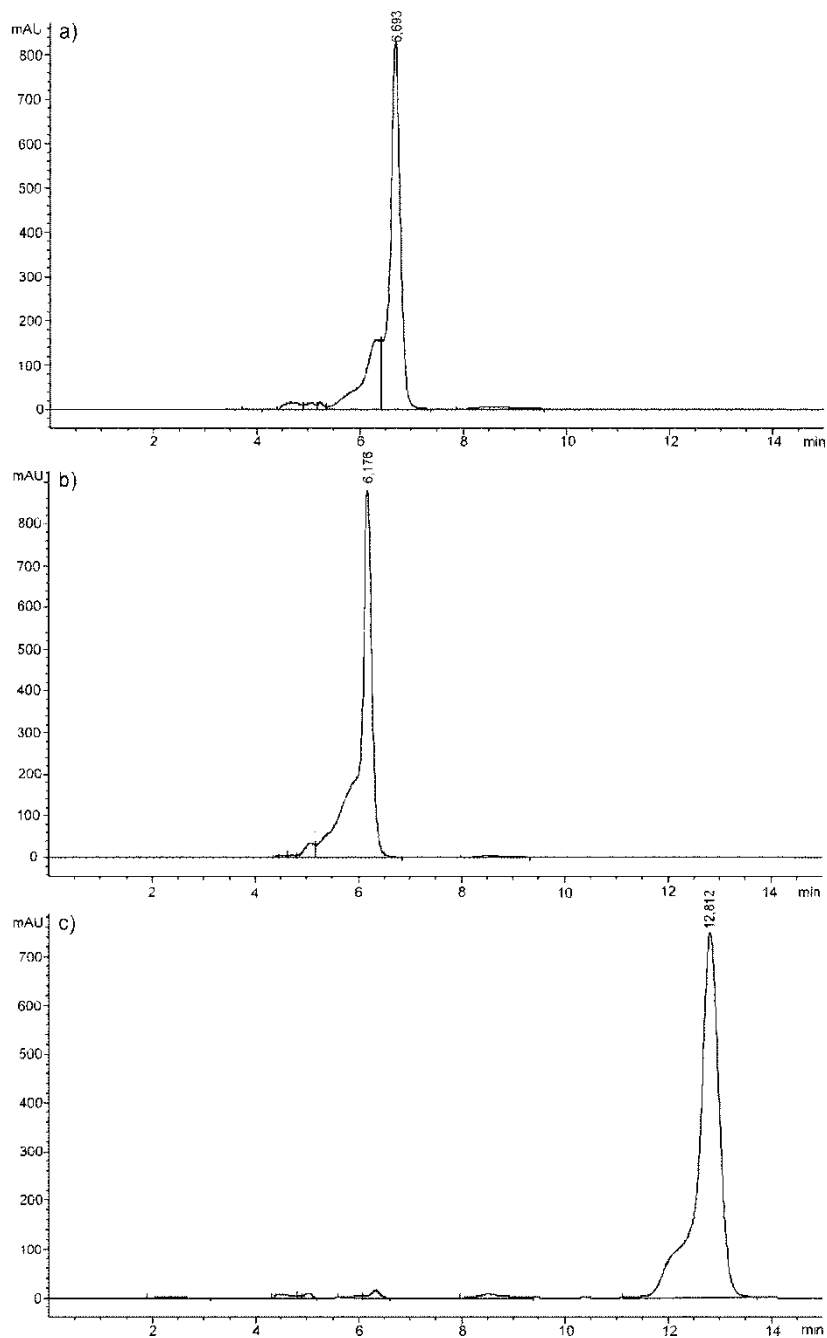
Sa slike 18 i iz tabele 8 se može videti da gelovi 10/90/2 i 30/70/2 imaju dve temperature ostakljivanja koje su veoma bliske i razlikuju se za samo nekoliko stepeni.

Najverovatnije, do ovakvih promena dolazi zbog prisutnih različitih segmenata u strukturi polimera koji potiču od dva različita monomera: *N*-izopropilmetakrilamida i *N*-izopropilakrilamida. Sa promenom temperature, ovi različiti segmenti gube ili dobijaju svoju pokretljivost (zavisno od toga da li se kopolimer hladi ili zagreva, redom) na različitim temperaturama. Međutim, sa povećanjem udela umreživača EGDM-a u sastav kopolimera sa 2 na 3 mol% očekuje se da se poveća broj čvorova u mreži kopolimera dok se u isto vreme smanjuju dužine grana. Ovo će usloviti stapanje dva u jedan staklasti prelaz zato što će se sa smanjenjem dužina grana izgubiti i te male razlike u sastavu segmenata koje potiču od različitih monomera i oni će početi da pokazuju istovetna toplotna svojstva. Tako, kod gela 30/70/3  $T_g$  je 160,08 °C, pri čemu postaju veoma bliske i vrednosti temperatura početka topljenja ( $T_{m_p}=220,55$  °C) i vrh pika koji potiče od topljenja gela ( $T_{m_{max}}=220,82$  °C). Kod uzoraka gelova 10/90/2 i 30/70/2 se i ove dve temperature razlikuju za po nekoliko stepeni. Kod gela sastava 50/50/3 pojavljuje se jedna anomalija da se temperatura staklastog prelaza ne može jasno uočiti a temperatura topljenja se ne pojavljuje ispod 250 °C.

#### 4.1.5 HPLC analiza rezidualnih reaktanata

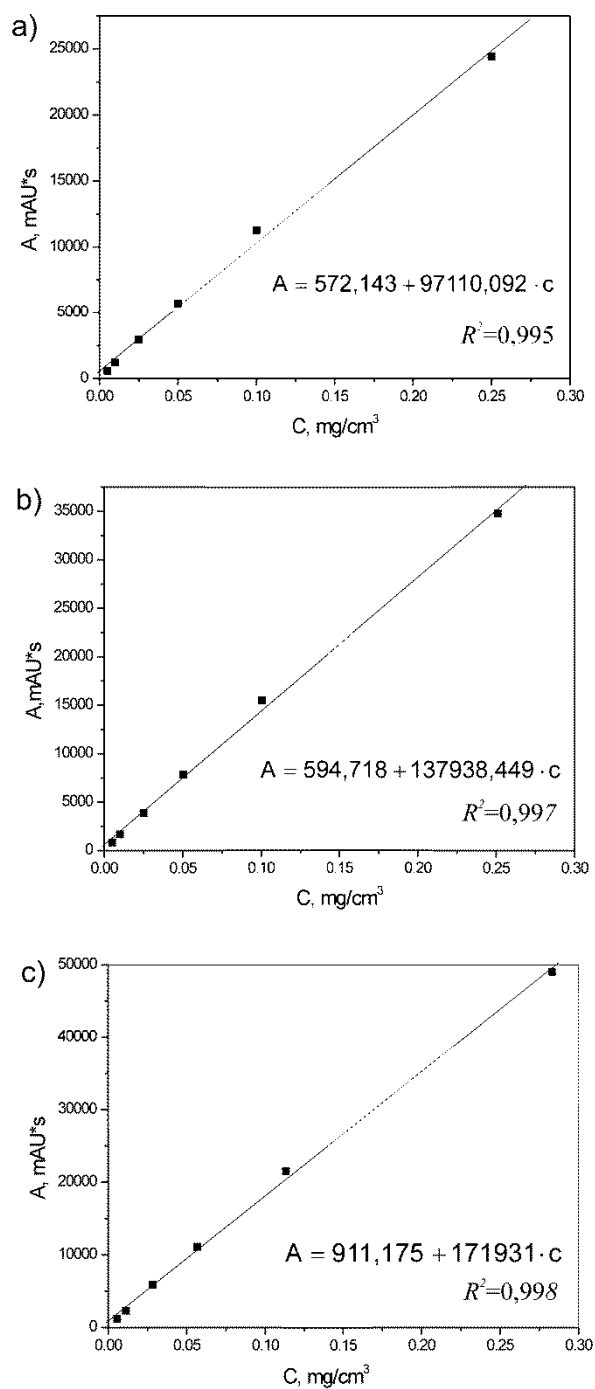
U procesu polimerizacije ne dolazi do potpune konverzije reaktanata u polimer, pa se u polimernim proizvodima mogu naći njihove neporeagovale količine. Prisustvo rezidualnih reaktanata u polimer može uticati na svojstva polimera. Međutim, znatno veću opasnost predstavlja toksičnost rezidualnih monomera za radnike u procesu proizvodnje i potrošače polimernih proizvoda. Metode tečne i gasne hromatografije (HPLC i GC) koriste se za analizu rezidualnih reaktanata u odgovarajućim ekstraktima. Cilj polimerne industrije je da se sadržaj rezidualnih reaktanata u procesu proizvodnje polimera svede na minimum (Vallo i sar., 1998; Kemmere i sar., 2002; Araújo i sar., 2002; Choi i Kim, 2012; Pemberton i Lohmann, 2014; Ayman, 2017).

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu sadržaja rezidualnih reaktanata u sintetisanim p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimerima primenjena je HPLC metoda. Za ovu analizu korišćeni su metanolni ekstrakti dobijeni nakon sedmodnevnog potapanja sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova. Pri odabranim uslovima hromatografske analize (odjeljak 3.3.6) retenciono vreme ( $R_t$ ) za monomer NiPMAm je 6,693 min, NiPAm 6,176 min i umreživač EGDM 12,812 min. HPLC hromatogrami monomera i umreživača prikazani su na slici 19.



Slika 19. HPLC hromatogrami standardnog rastvora a) monomera NiPMAM-a, b) monomera NiPAM-a i c) umreživača EGDM-a

Koncentracije rezidualnih reaktanata određene su iz jednačina koje odgovaraju pravolinijskom delu kalibracionih kriva konstruisanih kao zavisnost površine pika od poznate koncentracije reaktanta. Kalibracione krive sa jednačinama prave i korelacionim koeficijentima za NiPMAM, NiPAM i EGDM prikazane su na slici 20a, b i c, redom. U jednačinama prave  $A$  je površina pika (mAU\*s), a  $c$  koncentracija reaktanta ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ).



Slika 20. Kalibracione krive za: a) NiPMAM, b) NiPAM i c) EGDM

Neporeagovale količine monomera u toku sinteze kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM) u odnosu na ukupnu masu sintetisanog kserogela, kao i procentualni udeo u odnosu na njihovu početnu masu u reakcionoj smeši prikazane su u tabeli 9.

Tabela 9. Sadržaj rezidualnih reaktanata u sintetisanim p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelovima.

Uzorak p(NiPMAM-ko-NiPAm)	Sadržaj NiPAm		Sadržaj NiPMAM	
	mg/g <sub>kserogela</sub>	U odnosu na početnu masu, %	mg/g <sub>kserogela</sub>	U odnosu na početnu masu, %
10/90/1,5	6,20	0,20	0	0
10/90/2	11,66	0,28	0	0
10/90/3	4,52	0,30	0	0
20/80/1,5	7,57	0,39	0,27	0,05
20/80/2	8,16	0,50	0,35	0,07
20/80/3	4,92	0,38	0	0
30/70/1,5	14,59	0,27	0,67	0,02
30/70/2	13,39	0,87	1,36	0,18
30/70/3	11,70	0,90	1,17	0,19
40/60/1,5	30,84	1,12	5,5	0,27
40/60/2	22,58	1,48	5,27	0,46
40/60/3	14,56	1,48	2,70	0,37
50/50/1,5	66,10	1,74	30,39	0,71
50/50/2	15,29	1,28	11,46	0,85
50/50/3	16,05	1,59	13,25	1,17

HPLC analizom je utvrđeno da je izreagovala celokupna količina umreživača EGDM-a u procesu sinteze p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova. S obzirom da je toksičnost rezidualnih reaktanata limitirana njihovim sadržajem u kopolimeru, a da je u sintetisanim uzorcima njihov sadržaj prihvatljiv (NiPAm 0,2-1,74%, NiPMAM 0,02-1,17% i EGDM 0%) (tabela 9) sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelovi se mogu smatrati bezbednim za primenu kao nosači bioaktivnih supstanci.

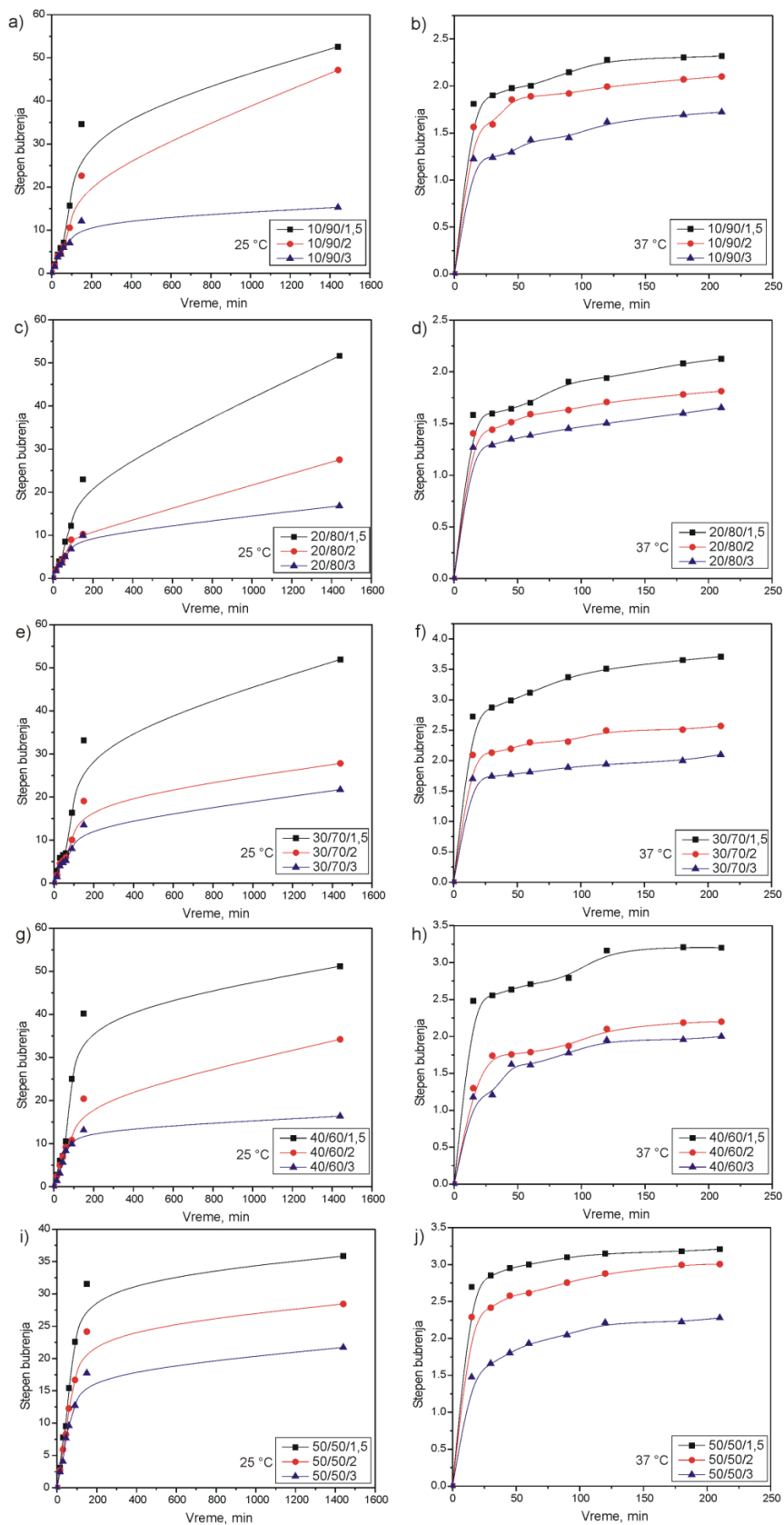
Neporeagovale količine rezidualnih reaktanata u ostalim sintetisanim p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelovima takođe su u prihvatljivim granicama i date su u Prilogu 2.

## 4.1.6 Bubrenje

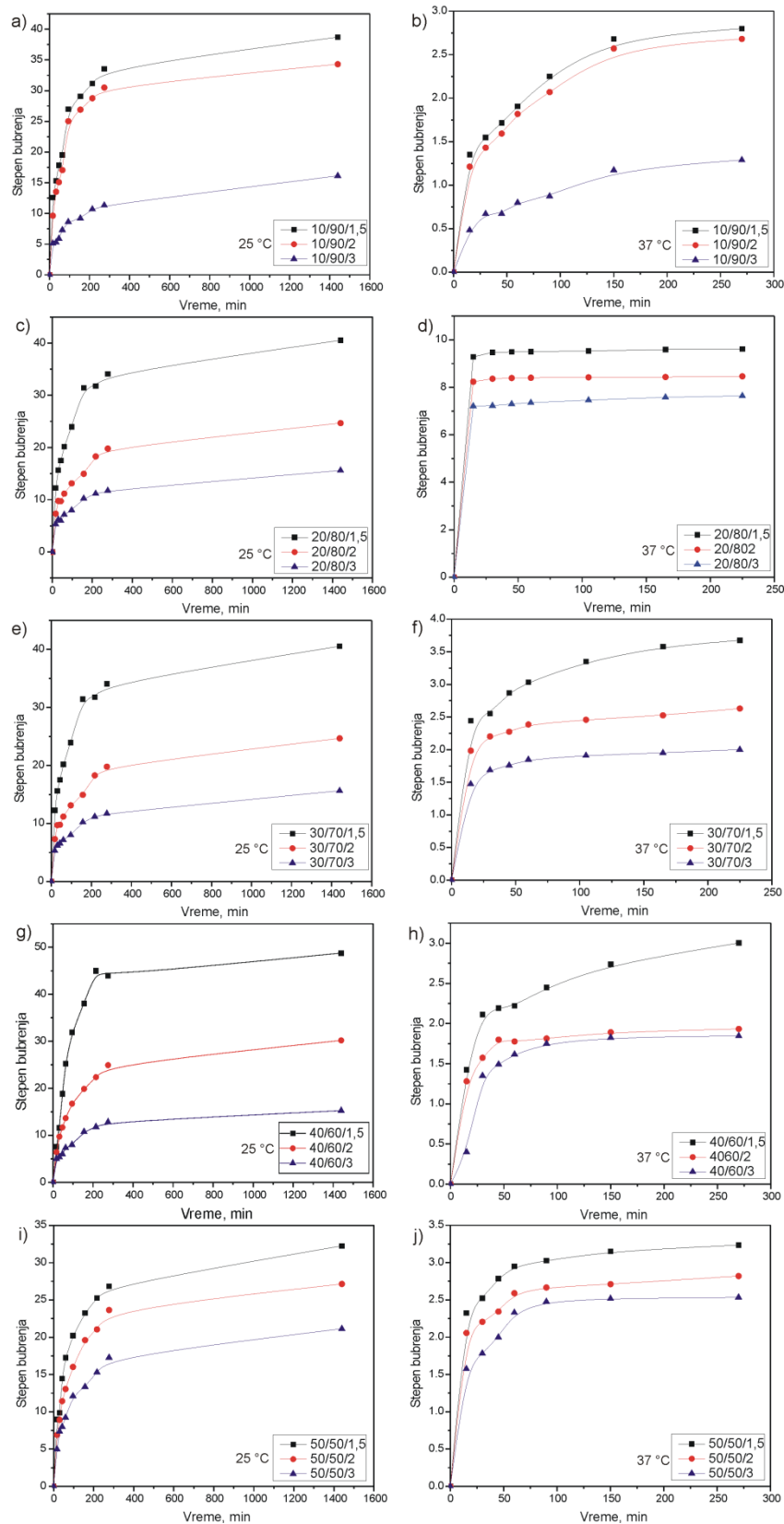
### 4.1.6.1 Uticaj pH vrednosti medijuma i sadržaja umreživača na stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena na različitim temperaturama (25 i 37 °C) u rastvoru pH vrednosti 4, 7,4 i 8 prikazana je na slikama 21, 22 i 23, redom.

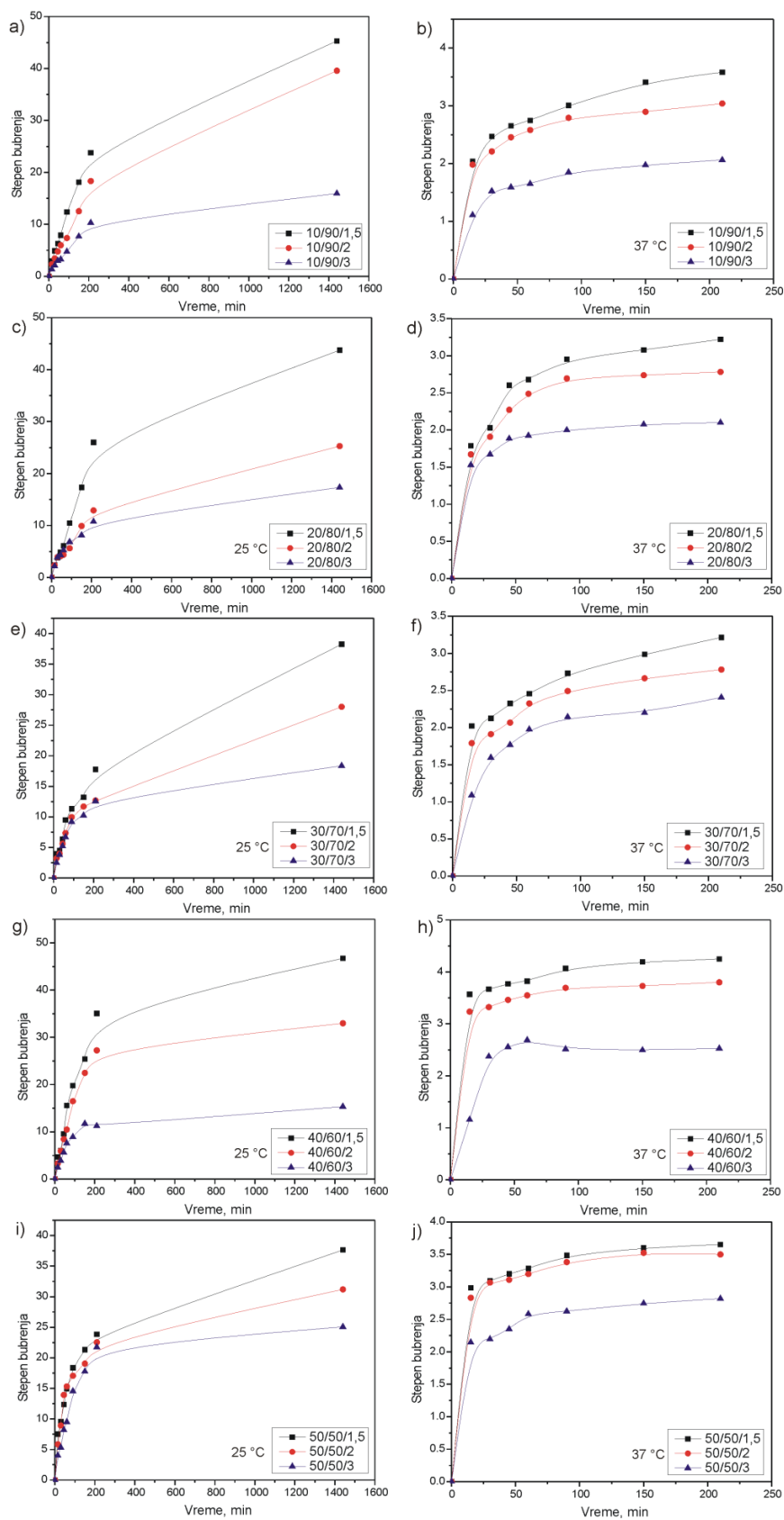




Slika 21. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMam-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 4 na: 25 °C (a, c, e, g, i) i 37 °C (b, d, f, h, j)



Slika 22. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 7,4 na: 25 °C (a, c, e, g, i) i 37 °C (b, d, f, h, j)



Slika 23. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMam-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 8 na: 25 °C (a,c,e,g, i) i 37 °C (b,d,f,h, j)

Sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelovi pokazuju neznatno veće stepene bubrenja u kiseloj sredini (pH=4) (slika 21) u poređenju sa stepenima bubrenja u neutralnoj (slika 22) i baznoj sredini (slika 23) na temperaturama 25 i 37 °C. Sekundarne amino grupe NiPMAM-a i NiPAM-a u kiseloj sredini mogu postojati u protonovonom stanju ( $\text{NH}_3^+$ ) što dovodi do elektrostatičkog odbijanja polimernih lanaca i većeg stepena bubrenja hidrogelova. Povećanje pH vrednosti rastvora ne utiče značajno na stepen bubrenja sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova tj. ovi hidrogelovi nisu pH osetljivi.

Koncentracija umreživača EGDM-a značajno utiče na stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova na 25 °C (slika 21, 22 i 23). Ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova se smanjuje sa povećanjem koncentracije umreživača, što se može objasniti nastankom gušće i kompaktnije polimerne mreže. Pri niskim koncentracijama umreživača EGDM-a rastojanje između čvorova polimerne mreže je veće, a samim tim je omogućena penetracija veće količine rastvora odnosno veći je stepen bubrenja hidrogelova. Praktično, duže grane između čvorova mreže mogu više da se razmaknu i apsorbuju veću količinu vodenog fluida. Najveću količinu rastvora apsorbuje p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogel 10/90/1,5 sa 1,5 mol% EGDM-a na temperaturi 25 °C pri pH vrednosti 4,  $\alpha_e=52,56$  (slika 21a). P(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelovi na 25 °C i na svim ispitivanim pH vrednostima u prvih 200 min dostižu stepene bubrenja približne ravnotežnim stepenima bubrenja. Sintetisani p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelovi pokazuju znatno veće ravnotežne stepene bubrenja ( $\alpha_e=15,26$  do 48,78) u rastvoru pH 7,4 na 25 °C (slika 22a, c, e, g i h) u odnosu na ravnotežni stepen bubrenja ( $\alpha_e \approx 3,50$ ) homopolimernog hidrogela p(NiPAM)-a sintetisanog u radu Shekhar i saradnika (Shekhar i sar. , 2012).

Stepen umreženja utiče na stepen bubrenja sintetisanih p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova i na temperaturi 37 °C (slika 21b, d, f, h, j; 22b, d, f, h, j; 23b, d, f, h, j). Sa povećanjem koncentracije umreživača smanjuje se ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova. Najveće ravnotežne stepene bubrenja na 37 °C i svim ispitivanim pH vrednostima pokazuju uzorci p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova sa 1,5 mol% EGDM-a. Uzorak p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogela 20/80/1,5 sa 1,5 mol% EGDM-a (slika 22d) na 37 °C i pH vrednosti 7,4 ima najveći ravnotežni stepen bubrenja ( $\alpha_e = 9,61$ ), dok uzorak p(NiPMAM-ko-NiPAM) 10/90/3 sa 3 mol% EGDM-a na 37 °C i pH vrednosti 7,4 postiže najmanji ravnotežni stepen bubrenja ( $\alpha_e=1,3$ ).

Promena pH vrednosti neznatno utiče na ravnotežni stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova na 37 °C koji u prvih 60 min dostižu stepene bubrenja približne ravnotežnim. Povećanje temperature od 25 na 37 °C uzrokuje značajno smanjenje stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova.

Zavisnost stepena bubrenja od vremena za sintetisane p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelove ispitana je i na 60 i 80 °C u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8. Rezultati su prikazani u Prilogu 3. Promena pH vrednosti neznatno utiče na ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova p(NiPMAM-ko-NiPAm) na ispitivanim temperaturama (60 i 80 °C). Povećanje temperature od 37 do 80 °C uzrokuje značajno smanjenje stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova.

Zavisnost stepena bubrenja od vremena za ostale sintetisane p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelove ispitana je u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8 na temperaturi 25, 37, 60 i 80 °C. Dobijeni rezultati prikazani su u Prilogu 4.

U tabeli 10 prikazane su eksperimentalne vrednosti difuzionog eksponenta, konstante karakteristične za određenu vrstu polimerne mreže i koeficijenta difuzije za bubrenje p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova na 25 °C i pH vrednosti 7,4 dobijene primenom jednačina 2 do 5.

Tabela 10. Kinetički parametri bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova na pH 7,4 i temperaturi 25 °C.

<b>Uzorak</b>	<b><i>n</i></b>	<b><i>k</i>, min<sup>1/n</sup></b>	<b><i>D</i>, cm<sup>2</sup>/min</b>
10/90/1,5	0,64	0,132	3,42×10 <sup>-5</sup>
10/90/2	0,82	0,092	1,65×10 <sup>-5</sup>
10/90/3	0,60	0,127	3,17×10 <sup>-5</sup>
20/80/1,5	0,76	0,103	2,093×10 <sup>-5</sup>
20/80/2	0,27	0,914	1,64×10 <sup>-3</sup>
20/80/3	0,19	1,059	2,2×10 <sup>-3</sup>
30/70/1,5	0,76	0,103	2,093×10 <sup>-5</sup>
30/70/2	0,62	0,127	3,178×10 <sup>-5</sup>
30/70/3	0,46	0,178	6,22×10 <sup>-5</sup>
40/60/1,5	1,85	0,0102	2,204×10 <sup>-7</sup>
40/60/2	1,10	0,0454	4,06×10 <sup>-6</sup>
40/60/3	0,57	0,137	3,701×10 <sup>-5</sup>
50/50/1,5	1,08	0,055	6,072×10 <sup>-6</sup>
50/50/2	0,98	0,063	7,801×10 <sup>-6</sup>
50/50/3	0,96	0,061	7,536×10 <sup>-6</sup>

Na osnovu vrednosti difuzionog eksponenta koje su prikazane u tabeli 10 može se zaključiti da su zastupljena tri tipa transporta fluida u p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelove.

Za ispitivane uzorke čija se vrednost difuzionog eksponenta nalazi u oblasti 0,60-0,98, transport rastvora u polimerni matriks p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova na temperaturi 25 °C i pH vrednosti rastvora 7,4 odgovara anomalnom tipu difuzije (ne-Fick-ova difuzija), gde vrednost difuzionog eksponenta treba da se nađe u oblasti  $0,5 < n < 1$ .

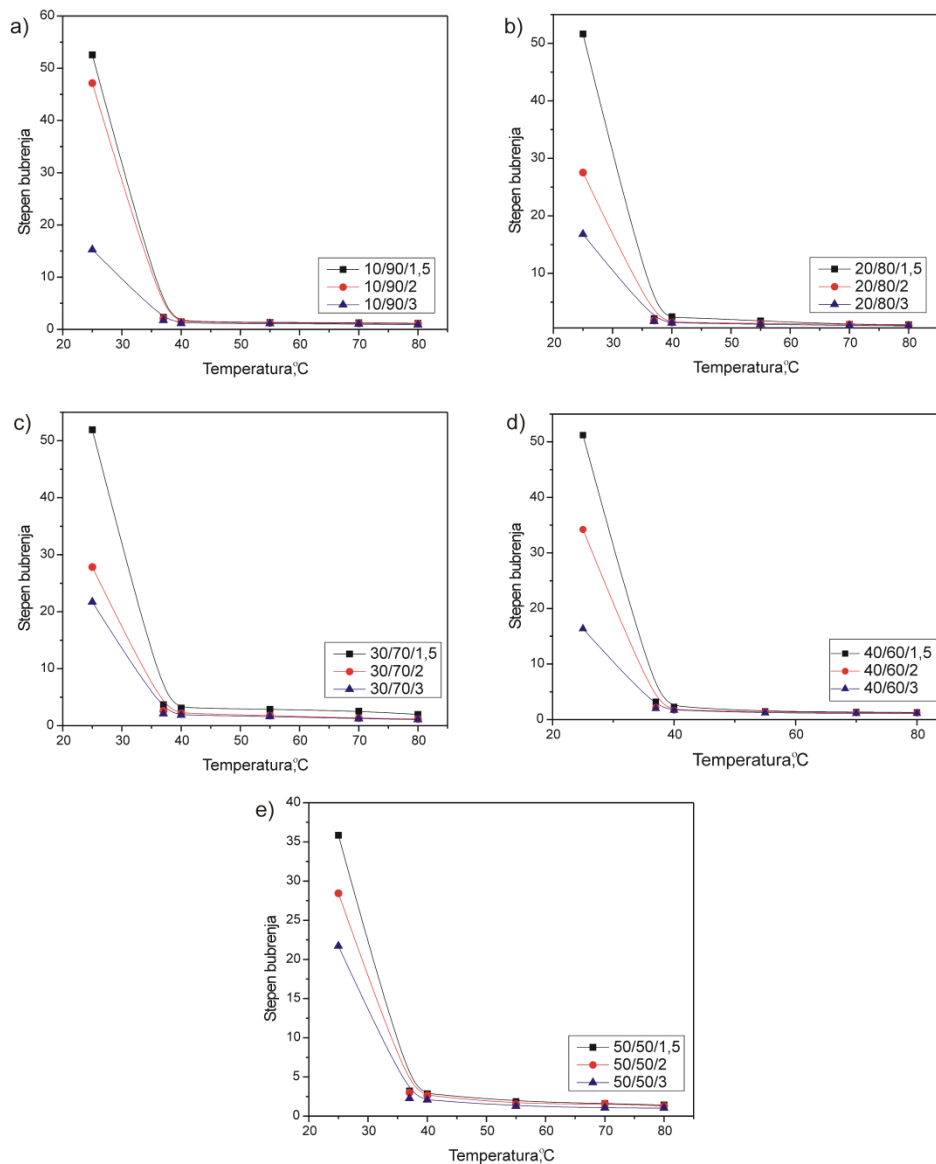
Relaksacija polimernih lanaca kontroliše bubrenje p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova, tip III (Slučaj III, Super Slučaj II) kod uzoraka čija je vrednost difuzionog eksponenta veća od 1, a za ispitivane uzorke se nalazi u opsegu 1,08-1,85. Proces bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova čija se vrednost difuzionog eksponenta nalazi u opsegu 0,19-0,46 određuje difuzija vodenog rastvora.

#### **4.1.6.2 Uticaj temperature na bubrenje p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova**

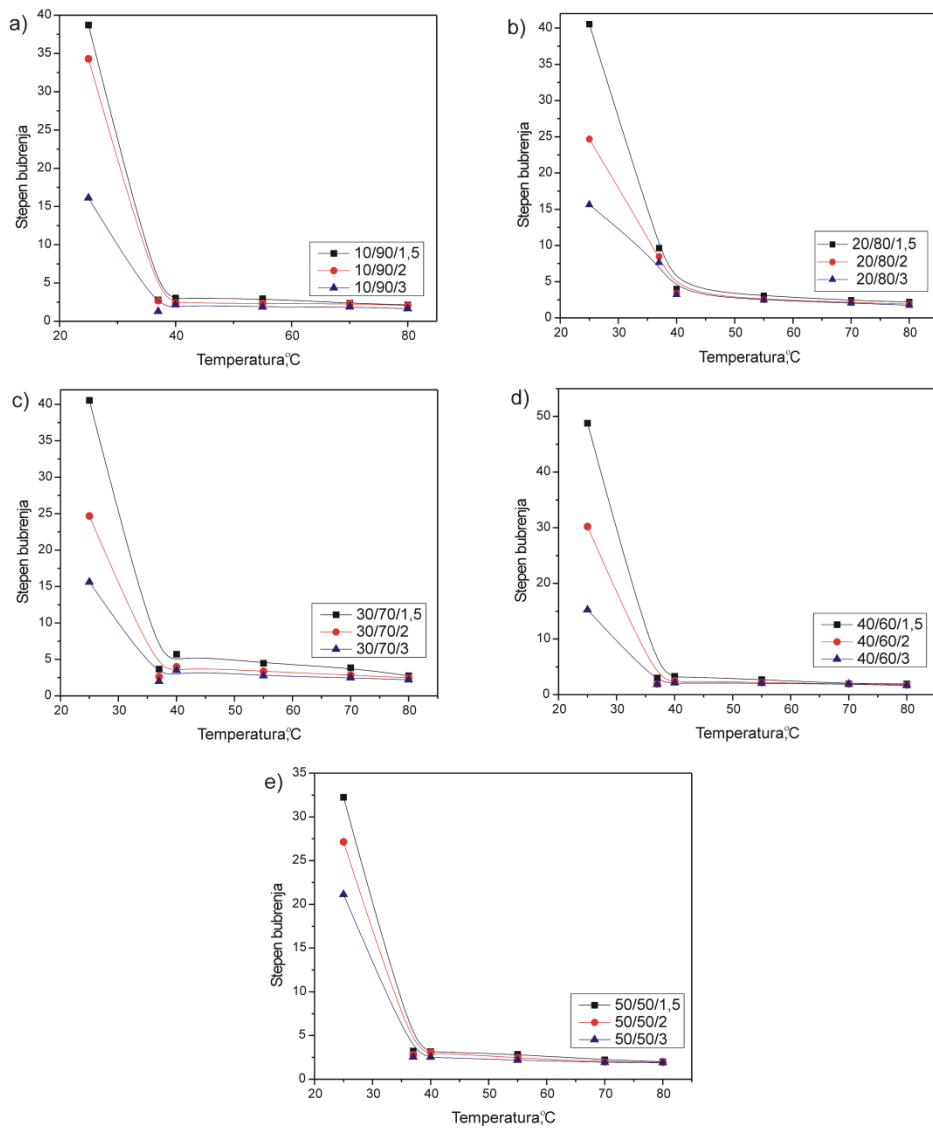
Osetljivost hidrogelova na promenu temperature od 25 do 80 °C u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8 prikazana je na slici 24, 25 i 26, redom.

Analizom grafika na slikama 24, 25 i 26 zapaža se da p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi pokazuju osetljivost na promenu temperature. Najveće vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi su postigli u rastvoru pH vrednosti 4 na temperaturi 25 °C. Nagli pad stepena bubrenja u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8 dešava se kada se temperatura poveća na 37 °C, dok je sa daljim povećanjem temperature zavisnost počela asimptotski da se približava konstantnoj, najnižoj vrednosti stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova. Najintenzivniji fazni prelaz primećen je u opsegu temperature 37 do 40 °C za sve ispitivane p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelove u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8 (slika 24, 25 i 26). Na temperaturama iznad temperature zapreminskog faznog prelaza dolazi do raskidanja vodonočnih veza sa molekulima vode, hidrofobne interakcije postaju dominantne i polimerna mreža se kontrahuje (Zhang i sar., 2002). Sa povećanjem temperature dolazi do opadanja stepena bubrenja ispitivanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova što ih svrstava u negativno termoosetljive hidrogelove. Uticaj umreživača na stepen bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova izražen je u temperaturnom opsegu 25-37 °C, dok je sa povećanjem temperature taj uticaj manje izražen.

Ispitana je i osetljivost ostalih sintetitsanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova na promenu temperature od 25 do 80 °C u rastvorima pH vrednosti 4, 7,4 i 8. Dobijeni rezultati prikazani su u Prilogu 5.

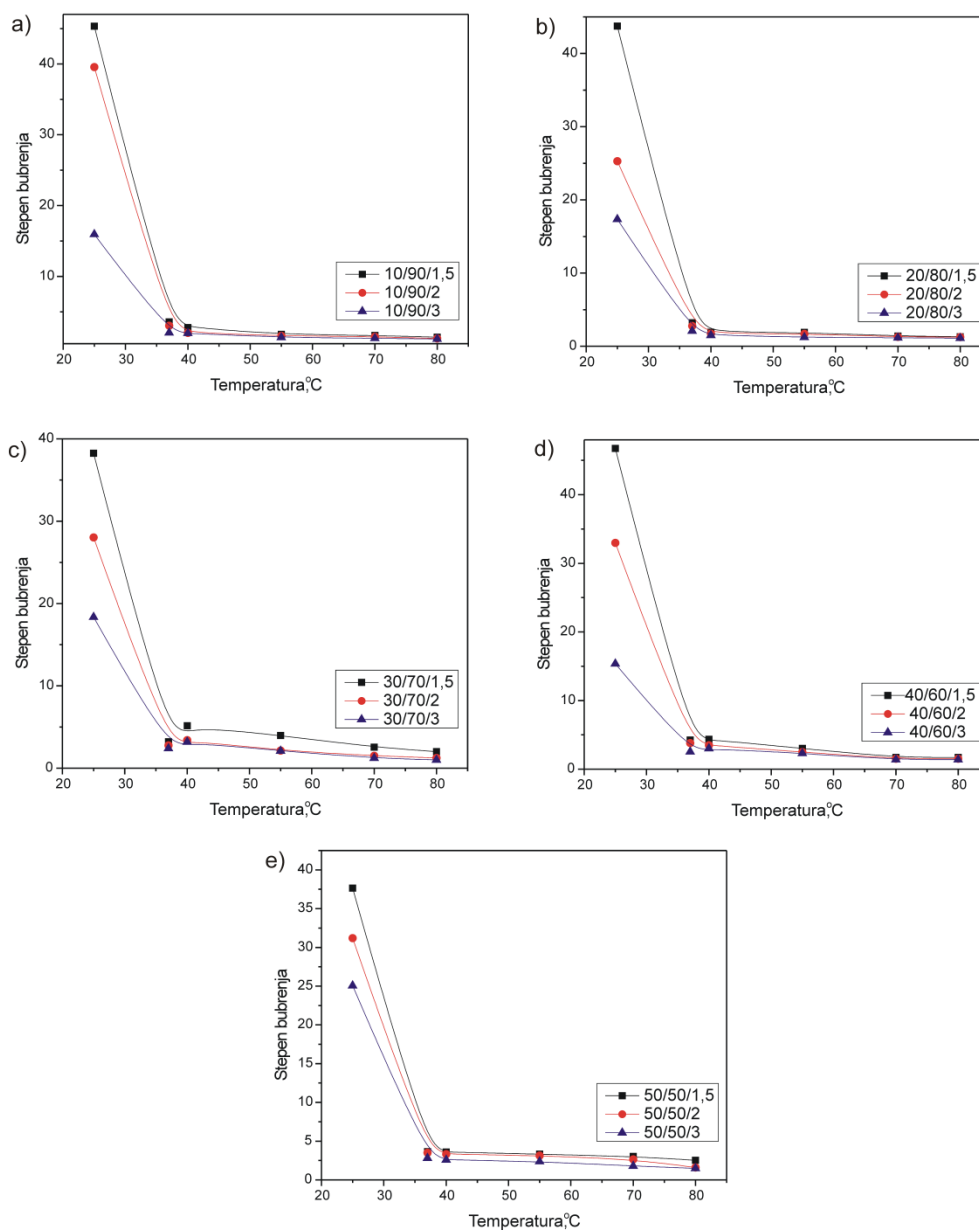


Slika 24. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 4



Slika 25. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 7,4





Slika 26. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 8

#### 4.1.6.3 Modelovanje procesa bubrenja hidrogelova

Modelovanje procesa bubrenja kopolimernih hidrogelova p(NiPMAm-ko-NiPAm) je izvršeno centralnim kompozitnom dizajnom. Plan eksperimenata prema CCD matrici dizajna sa dobijenim vrednostima ravnotežnih stepena bubrenja hidrogelova sa 2 mol% umreživača EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 4 prikazan je u tabeli 11.

Tabela 11. Matrica CDD dizajna sa vrednostima ravnotežnih stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

Broj eksperimenta	$t$ (°C)	Sadržaj NiPMAM (mol%)	$\alpha_e$
9	35	50	7,986
2	40	30	2,149
12	35	50	8,734
10	35	50	8,351
6	45	50	2,281
1	30	30	17,267
3	30	70	15,235
4	40	70	2,652
5	25	50	28,440
8	35	90	5,701
13	35	50	7,556
11	35	50	7,411
7	35	10	11,058

Softver Design-Expert je nasumično odredio redosled eksperimenata u skladu sa CCD dizajnom. Softver omogućava optimizaciju procesa putem različitih matematičkih modela: linearnog, dvo-faktorsko interakcionog (2FI), kvadratnog i kubnog modela. Prema konačnoj statistici modela softvera najbolji model za opisivanje procesa ravnotežnog bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova u zavisnosti od sastava kopolimera i temperature okolnog medijuma je kvadratni. Najmanja vrednost standardne devijacije i visoke vrednosti koeficijenta determinacije ( $R^2$ ), korigovanog koeficijenta determinacije ( $R_{adj}^2$ ) i predviđenog koeficijenta determinacije ( $R_{pred}^2$ ) dobijene su za kvadratni model, tako da je on najpogodniji model za proces bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova u poređenju sa ostalim pomenutim modelima. Proces bubrenja termoosetljivih p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova biće najbolje opisan polinomnim modelom drugog reda (jednačina 11), koji pored interakcije između različitih nezavisnih promenljivih definiše i optimalni maksimum ili minimum, odnosno zakrivljenost površine odgovora preko kvadratnih članova. Jednačina kvadratnog modela nam omogućava i utvrđivanje nelinearne veze između faktora i odgovora sistema (Lundstedt i sar., 1998).

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 + ostatak \quad (11)$$

U jednačini  $Y$  predstavlja odgovor sistema,  $b$  regresioni koeficijent, a *ostatak* je greška, odnosno razlika između izračunatih i eksperimentalnih rezultata. Regresioni koeficijent  $b_0$  je odsečak ili srednja vrednost odgovora sistema,  $b_1$  i  $b_2$  linearni regresioni koeficijenti,  $b_{11}$  i  $b_{22}$  kvadratni regresioni koeficijenti,  $b_{12}$  regresioni koeficijent međufaktorskog dejstva (Lundstedt, 1998; Rožić, 2011).

Rezultati ANOVA testa za kvadratni model bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova dati su u tabeli 12. Ovaj test omogućava analizu adekvatnosti i primenjivosti odabranog modela. Statistička značajnost faktora je određena preko  $F$ -testa (Fišerova distribucija) i  $p$  vrednosti (nivo značajnosti ili verovatnoća pojavljivanja greške) (Montgomery, 2012; Sharif i sar., 2014; Stanojević i sar., 2006).

Značajnim članovima u modelu su smatrani oni članovi čiji je nivo značajnosti manji od 0,005. Dobijeni kvadratni model je redukovana za član  $X_2^2$  i  $X_1X_2$ , odnosno za kvadratni efekat sadržaja NiPMAM-a i međufaktorsko dejstvo temperature i sastava kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAm), jer ovi članovi nisu statistički značajni. Na ovaj način dobijen je model boljih performansi za opisivanje procesa bubrenja hidrogelova čiji koeficijenti  $R^2$ ,  $R_{adj}^2$  i  $R_{pred}^2$  sada iznose 0,9892, 0,9856 i 0,9720, redom.

Tabela 12. Rezultati analize varijanse za redukovani kvadratni model ravnotežnog bubrenja hidrogelova

	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Model	627,21	3	209,07	274,96	< 0,0001
$X_1$	533,59	1	533,59	701,74	< 0,0001
$X_2$	12,49	1	12,49	16,43	0,0029
$X_2^2$	81,13	1	81,13	106,70	< 0,0001
<i>Reziduali</i>	6,84	9	0,76		
<i>Odstupanje od modela</i>	5,64	5	1,13	3,74	0,1127
<i>Čista greška</i>	1,21	4	0,30		
<i>Ukupna korekcija</i>	634,05	12			

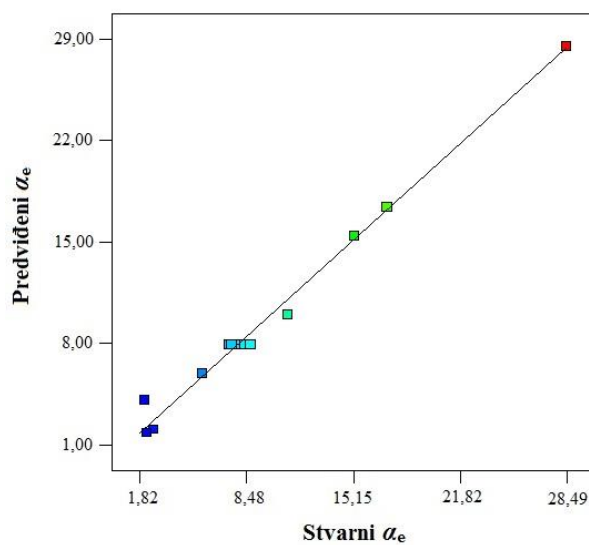
SS – suma kvadrata, df – broj stepeni slobode, MS – srednja kvadratna vrednost

$F$  - Fišerova distribucija i  $p$  – nivo značajnosti

Iz tabele 12 se uočava da je model statistički značajan,  $p < 0,0001$ . Visoke vrednosti koeficijenata determinacije i statistička neznačajna vrednost odstupanja od modela - *Lack of Fit* ( $p = 0,1127$ ) ukazuju da izabrani model ima dobre performanse za opisivanje procesa bubrenja hidrogelova.

Pored toga u prilog ovoj činjenici ide i grafik zavisnosti predviđenih i stvarnih vrednosti ravnotežnih stepena bubrenja hidrogelova (slika 27), na kome tačke minimalno odstupaju, odnosno rasipaju se od prave linije.

Statistički značajni članovi u redukovanom kvadratnom modelu su  $X_1$ ,  $X_2$  i  $X_2^2$  ( $p < 0,05$ ), što znači da je odgovor sistema pod uticajem linearnih efekata temperature i sadržaja NiPMAM-a kao i kvadratnog efekta temperature.



Slika 27. Zavisnost predviđenih i stvarnih vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova

Model drugog reda dobijen za proces ravnotežnog bubrenja hidrogelova sa kodiranim i stvarnim vrednostima faktora prikazan je jednačinama 12 i 13.

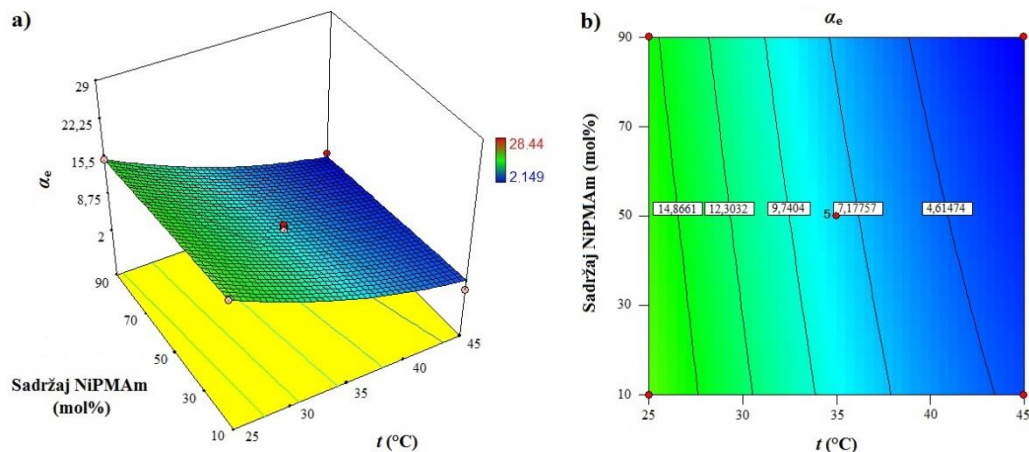
$$Y = 7,94 - 6,67 X_1 - 1,02 X_2 + 1,80 X_2^2 \quad (12)$$

$$\alpha_e = 7,93615 - 6,6625 \cdot t - 1,02025 \cdot \text{sadržaj NiPMAM} + 1,80426 \cdot t^2 \quad (13)$$

Uticaj faktora na odziv sistema je određen vrednostima koeficijenata regresije i njihovim predznacima u jednačini sa kodiranim vrednostima (jednačina 12). Veća apsolutna vrednost koeficijenta ukazuje na veći uticaj faktora na odziv sistema, dok predznak koeficijenta ukazuje na pozitivan (+) ili negativan efekat (-) na odgovor sistema (Garba, 2014; Zabeti, 2010). Temperatura ima negativan efekat na ravnotežni stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova i veća apsolutna vrednost regresionog koeficijenta od 6,67 pokazuje značajan efekat ovog faktora na odziv sistema (jednačina 12).

Negativan efekat temperature je očekivan, jer hidrogelovi p(NiPMAM-ko-NiPAM) pripadaju grupi negativno temperaturno-osetljivih kopolimera. Sadržaj NiPMAM-a ima isti predznak u jednačini 12 kao i temperatura, ali značajno manji uticaj na ravnotežni stepen bubrenja hidrogelova ( $b_2 = -1,02$ ).

Na slici 28 prikazan je dijagram površine odgovora (a) i konturni dijagram (b) za ravnotežno bubrenje hidrogelova u funkciji temperature i sastava hidrogelova.



Slika 28. Dijagram površine odgovora a) i konturni dijagram b) za ravnotežno bubrenje hidrogelova u funkciji temperature i sastava hidrogelova

Sa slike 28 se takođe može zaključiti da povećanje temperature medijuma ima značajniji antagonistički efekat na ravnotežno bubrenje p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova u poređenju sa sadržajem NiPMAM-a. Ravnotežni stepen bubrenja,  $\alpha_e$ , u ispitivanom opsegu procesnih faktora je od 2,149 do 28,440. Prema redukovanom kvadratnom modelu stepen bubrenja na temperaturi od 25 °C i sadržaju NiPMAM-a od 50 mol% iznosi 28,49, dok je eksperimentalno dobijena vrednost bila 28,44, što još jednom potvrđuje da je model pogodan za opisivanje procesa ravnotežnog bubrenja hidrogelova.

## 4.2 Inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

Inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin pripremljen je koprecipitacionom metodom i strukturno okarakterisan primenom FTIR,  $^1\text{H-NMR}$ , XRD, DSC i SEM metoda sa ciljem da se dokaže inkorporiranje kurkumina u šupljinu ciklodekstrina.

### 4.2.1 FTIR analiza

FTIR spektri kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina uporedno su analizirani sa FTIR spektrima inkluzionog kompleksa i fizičke smeše u cilju definsanja razlika u izgledu spektra inkluzionog kompleksa u odnosu na spektre čistih supstanci i fizičke smeše (slika 29).

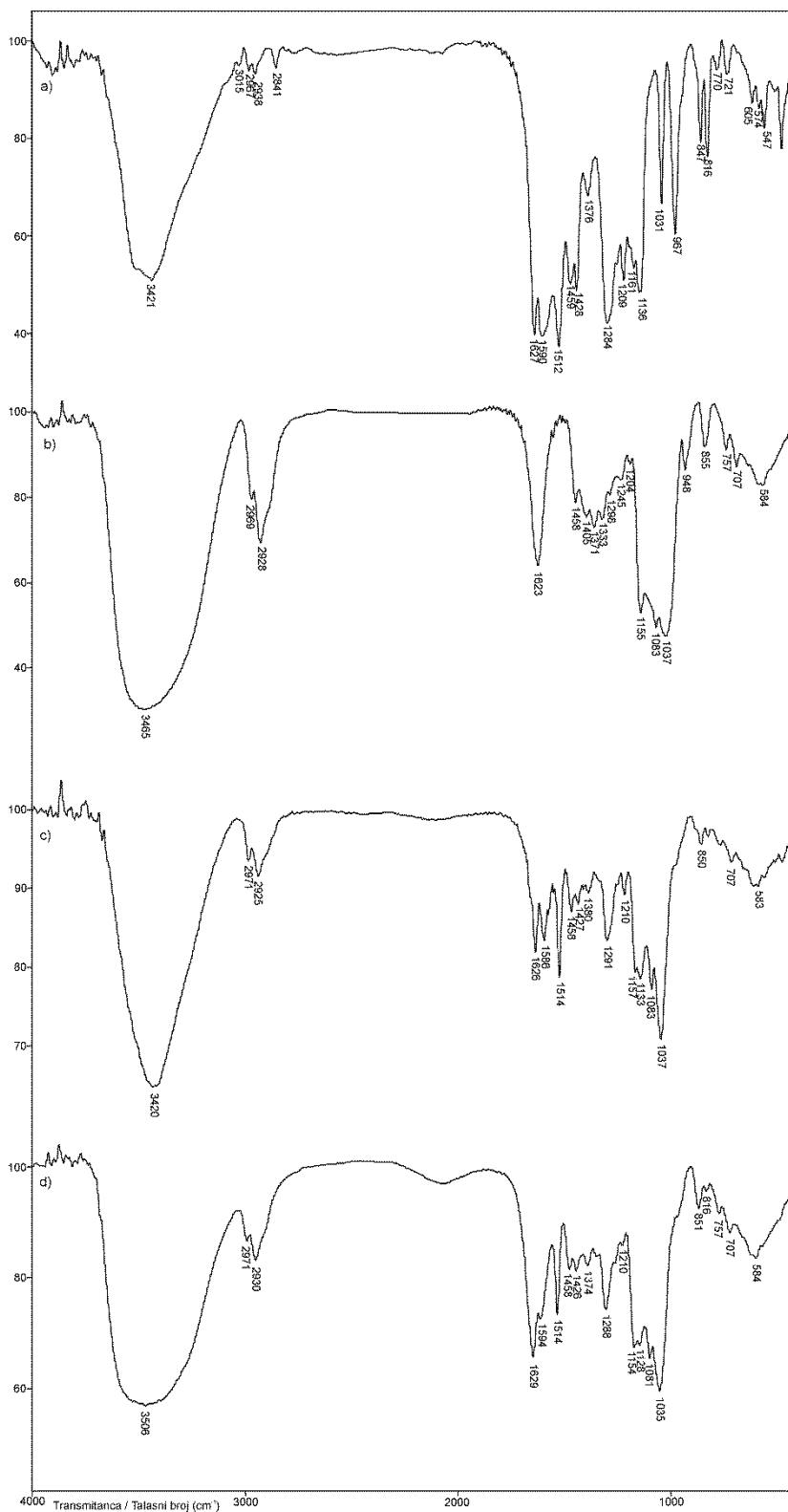
U FTIR spektru kurkumina (slika 29a) javlja se široka apsorpciona traka na  $3421\text{ cm}^{-1}$  koja je rezultat valencionih vibracija slobodne fenolne OH grupe. U oblasti talasnih brojeva  $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru kurkumina javljaju se dve karakteristične apsorpcione trake sa maksimumima na  $2967$  i  $2841\text{ cm}^{-1}$  koje potiču od asimetričnih valencionih vibracija metil grupe i valencionih vibracija metoksi grupe, redom (Kundu i Nithiyantham, 2013; Ismail i sar., 2014; Safie i sar., 2015;). Postojanje aromatične strukture potvrđuju trake od valencionih vibracija C=C grupe koje se javljaju u oblasti talasnih brojeva  $1600\text{ - }1450\text{ cm}^{-1}$ , a u FTIR spektru kurkumina se nalaze sa maksimumima na  $1627$ ,  $1590$ ,  $1512$  i  $1459\text{ cm}^{-1}$ . U skladu sa literaturnim podacima apsorpciona traka sa maksimumom na  $1627\text{ cm}^{-1}$  može se pripisati valencionim vibracijama karbonilne grupe (Valand i sar., 2015). Apsorpciona traka sa maksimumom na  $1209\text{ cm}^{-1}$  potiče od valencionih vibracija C-O veze fenolne grupe, dok se apsorpciona traka koja potiče od C-O-C veze u FTIR spektru kurkumina javlja na  $1031\text{ cm}^{-1}$  (Ali i sar., 2014). U oblasti talasnih brojeva  $730\text{-}860\text{ cm}^{-1}$  nalaze se apsorpcione trake koje potiču od deformacionih vibracija van ravni C-H veze aromatičnog prstena.

Široka traka sa maksimumom apsorpcije na  $3465\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 29b) rezultat je valencionih vibracija hidroksilne grupe 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Apsorpcione trake koje potiču od valencionih vibracija C-H veze javljaju se u FTIR spektru sa maksimumima na  $2928$  i  $2969\text{ cm}^{-1}$  (de Silva i sar., 2018).

U FTIR spektru 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina apsorpciona traka sa maksimumom na  $1623\text{ cm}^{-1}$  potiče od deformacionih vibracija u ravni O-H veze (Wang i sar., 2011). Asimetrične i simetrične deformacione vibracije u ravni C-H veze daju trake na  $1458$  i  $1371\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, redom.

Apsorpciona traka na  $1155\text{ cm}^{-1}$  ukazuje na valentne vibracije C-C veze, dok apsorpcione trake sa maksimumima na  $1083$  i  $1037\text{ cm}^{-1}$  potvrđuju prisustvo valentnih vibracija C-O veza u etarskim i hidroksilnim grupama 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. U opsegu  $1000-700\text{ cm}^{-1}$  javljaju se trake valentnih i deformacionih vibracija glukopiranoznih jedinica (Nikolić i sar., 2014).

Uporednom analizom FTIR spektara kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina sa FTIR spektrom inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 29c) uočavaju se promene u izgledu FTIR spektra kompleksa u odnosu na FTIR spektre čistih supstanci. Široka traka sa maksimumom apsorpcije na  $3420\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 29c) pomerena je za 45 jedinaca ka nižim talasnim brojevima u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 29b). U FTIR spektru kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin zapaža se odsustvo dve karakteristične apsorpcione trake sa maksimumima na  $2967$  i  $2841\text{ cm}^{-1}$  koje potiču od asimetričnih valencionih vibracija metil grupe i valencionih vibracija metoksi grupe kurkumina (slika 29a), redom. Apsorpcione trake koje potiču od valentnih vibracija C-H veze sa maksimumima na  $2928$  i  $2969\text{ cm}^{-1}$  u FTIR spektru 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina pomerene su za 3 jedinice ka nižim tj. za 2 jedinice ka višim talasnim brojevima u FTIR spektru kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 29c) i javljaju se na  $2925\text{ cm}^{-1}$  i  $2971\text{ cm}^{-1}$ , redom. Ove promene mogu ukazivati na interakciju ovih grupa iz 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina sa odgovarajućim grupama iz molekula kurkumina. Apsorpciona traka koja potiče od C-O-C veze u FTIR spektru kurkumina i javlja se na  $1031\text{ cm}^{-1}$  ne postoji u FTIR spektru kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 29c). Apsorpciona traka valentnih vibracija C-C veze 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u FTIR spektru kompleksa je pomerena za 2 jedinice ka višim talasnim brojevima. Odsustvo i pomeranje pojedinih apsorpcionih traka u FTIR spektru kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin ukazuje na uključivanje kurkumina u šupljinu ciklodekstrina, što je u skladu sa literaturnim podacima (Rachmawati i sar., 2013).

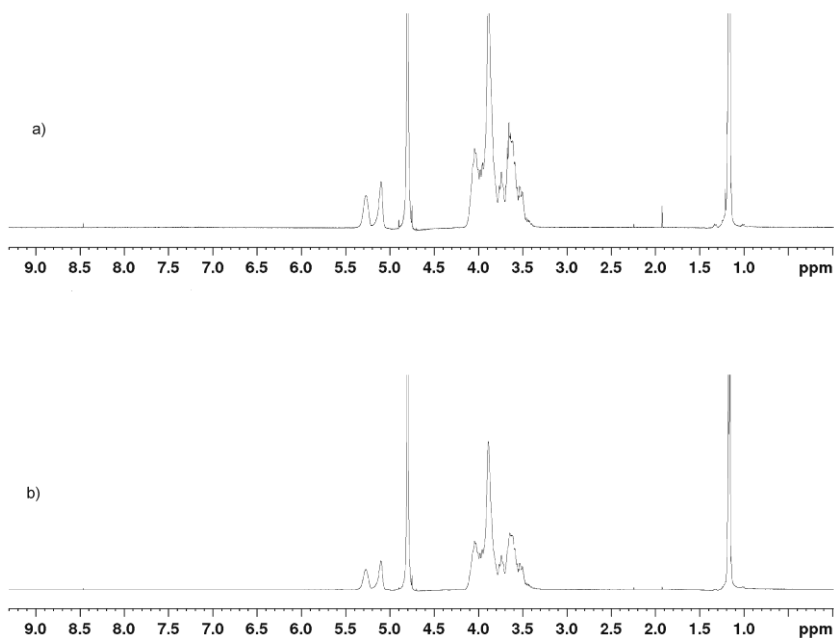


Slika 29. FTIR spektri: a) kurkumin, b) 2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin, c) inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin i d) fizička smeša kurkumina i 2-hidroksipropil-β-ciklodekstrina



## 4.2.2 $^1\text{H}$ -NMR analiza

Na slici 30 su prikazani  $^1\text{H}$ -NMR spektri kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.



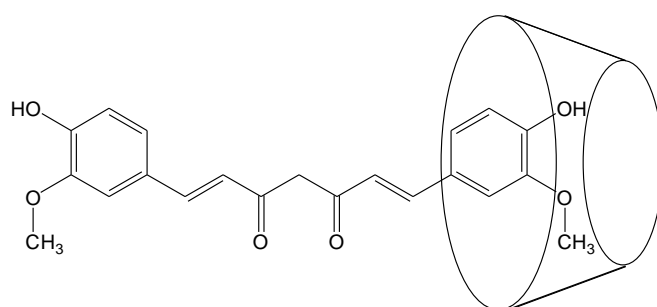
Slika 30.  $^1\text{H}$ -NMR spektar: a) kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i b) 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

U tabeli 13 prikazane su vrednosti hemijskih pomeranja 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina i kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i promena hemijskih pomeranja protona koji potiču od 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u kompleksu.

Tabela 13. Vrednosti hemijskih pomeranja  $\delta$  za 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (2-HP- $\beta$ -CD) i za kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (Kompleks) i promene hemijskih pomeranja  $\Delta\delta$  za protone koji potiču od 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u kompleksu.

Tip protona	Vrednosti hemijskog pomeranja $\delta$		$\Delta\delta$
	2-HP- $\beta$ -CD	Kompleks	
CH <sub>3</sub>	1,1692	1,1678	+0,0014
H-C <sub>1</sub>	5,1005	5,0993	+0,0012
H-C <sub>2</sub>	5,2732	5,2743	-0,0011

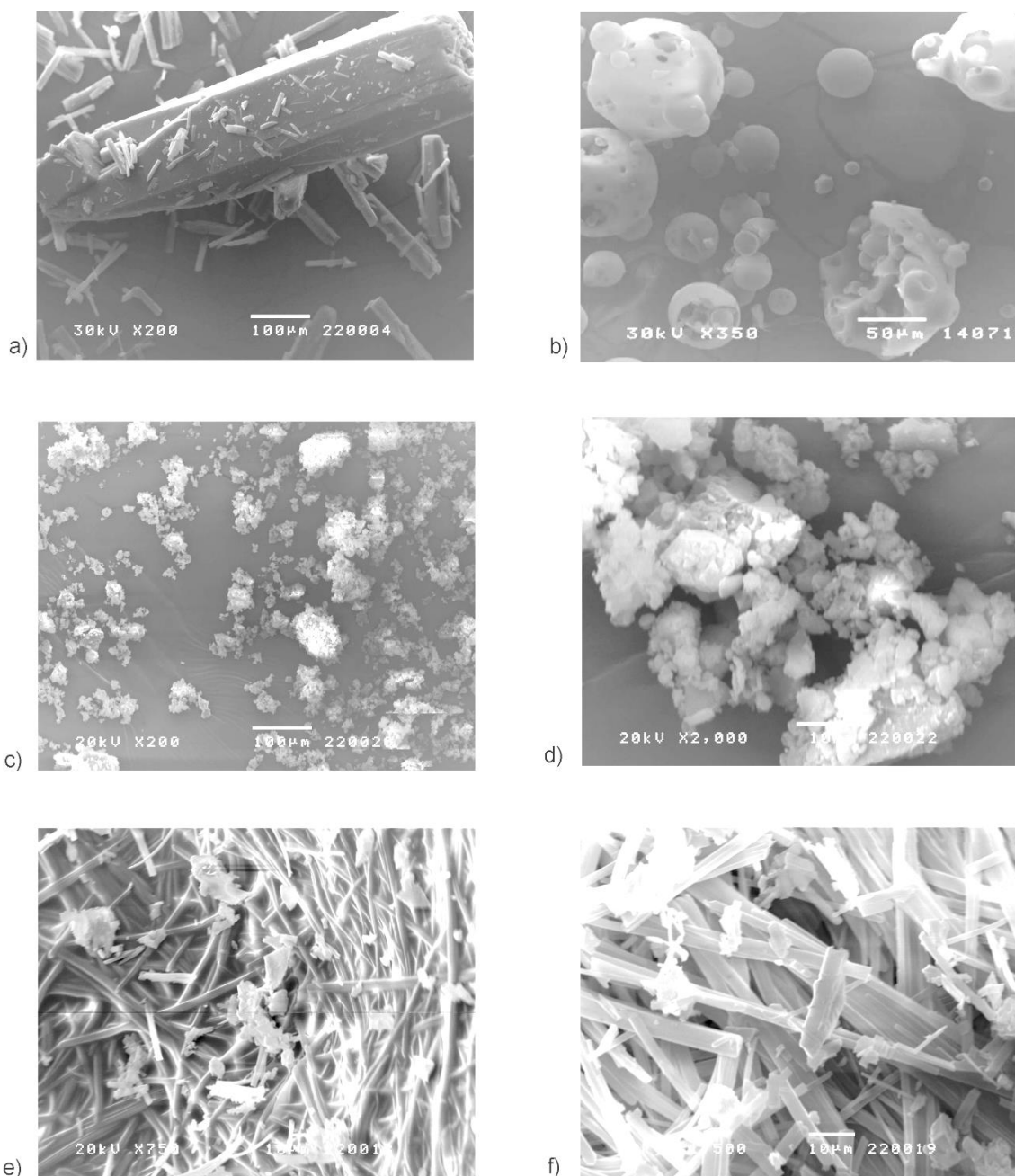
S obzirom da je rastvorljivost kurkumina u vodi veoma slaba, analiza je usmerena na praćenje hemijskih pomeranja protona iz 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Promene hemijskih pomeranja protona  $\Delta\delta$  koje su prikazane u tabeli 8, ukazuju na formiranje slabih vodoničnih veza u koje su uključeni protoni iz metil grupe 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina i protoni na C-atomima u položaju 1 i 3, što ukazuje na stvaranje inkluzionog kompleksa. Na slici 31 prikazan je mogući način inkorporiranja kurkumina u šupljinu ciklodekstrina, jer kako navode Tang i saradnici širina kurkumina iznosi 0,6 nm, a dužina 1,9 nm što omogućava ulazak aromatičnog dela kurkumina u šupljinu ciklodekstrina čija je širina (0,74 nm) (Tang i sar., 2002).



Slika 31. Šematski prikaz mogućeg načina inkorporiranja kurkumina u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

### 4.2.3 SEM analiza

Skenirajuća elektronska mikroskopija je primenjena u cilju određivanja morfologije kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i fizičke smeše kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 32).

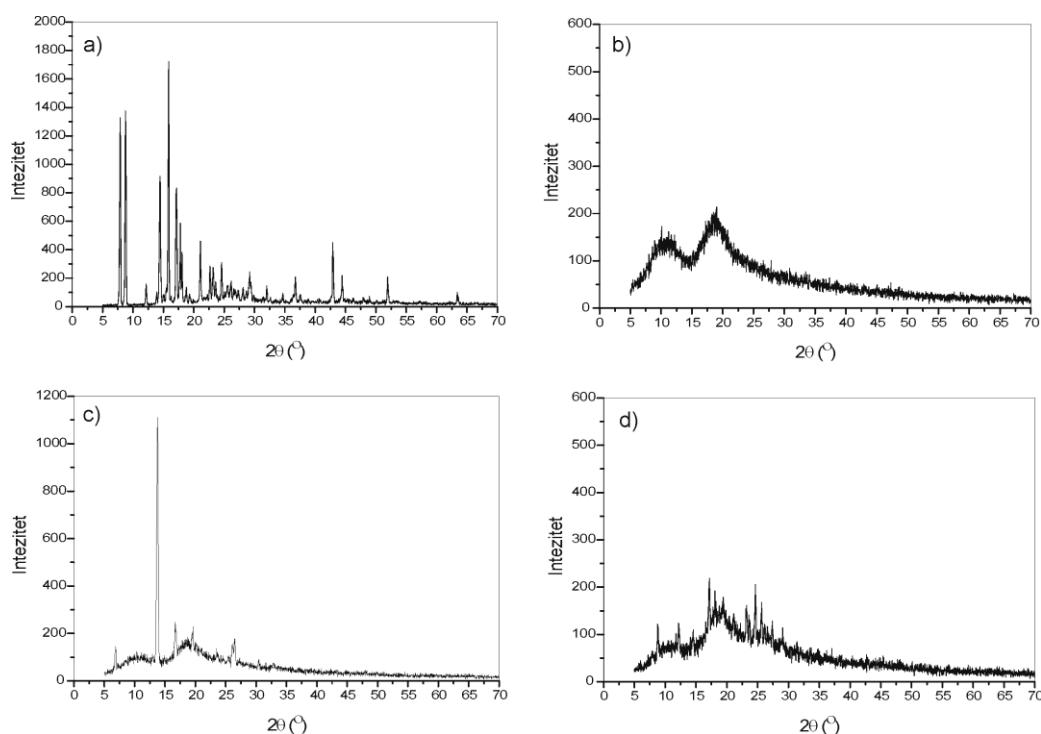


Slika 32. SEM mikrografije: a) kurkumin, b) 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, c) i d) kompleks kurkumina:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, e) i f) fizička smeša kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

Na SEM mikrografiji (slika 32a) uočava se štapičasta struktura kurkumina, dok se na mikrografiji 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 32b) prisutne sferične čestice. Ovako dobijena morfologija čistih supstanci je u skladu sa literaturnim podacima (Jafar i sar., 2018; Creteanu i sar., 2019; Ratrey i sar., 2020). Analizom mikrografija čistih supstanci, inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 32c i d) i fizičke smeše (slika 32e i f) zapaža se jasna razlika u morfologiji istih. Naime, na mikrografiji inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin vide se strukture nepravilnog oblika, ali ne i štapičaste i sferne strukture kao na mikrografijama čistih supstanci i fizičke smeše što ukazuje na inkapsulaciju kurkumina u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.

#### 4.2.4 XRD analiza

XRD spektri kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i fizičke smeše kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina prikazani su na slici 33.



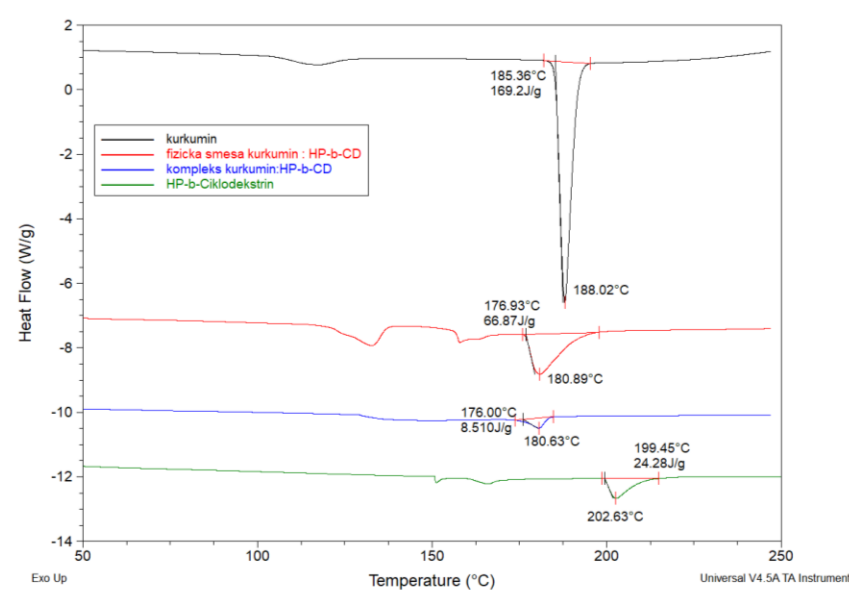
Slika 33. XRD difraktogrami: a) kurkumin, b) 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, c) inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, d) fizička smeša kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

Na difraktogramu kurkumina (slika 33a) prisutni su oštri pikovi na vrednostima ugla difrakcije  $2\theta$ : 7,6; 8,7; 16; 17,5; 21 i  $42,55^\circ$  koji pokazuju da je kurkumin u kristalnom obliku što je u skladu sa literaturnim podacima (Chen i sar., 2018) i SEM mikrografijom (slika 33a). Dva široka pika bez izraženih maksimuma koja se javljaju u intervalu  $2\theta = 5-15^\circ$  i  $2\theta = 15-22,5^\circ$  u difraktogramu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 33b) ukazuju na njegovu amorfnu strukturu (Li i sar., 2018). U poređnom analizom difraktograma na slici 28 uočava se da u difraktogramu inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (slika 33c) ne postoje oštri pikovi koji su prisutni u difraktogramu kristalnog kurkumina.

Pojava novih pikova u difraktogramu inkluzionog kompleksa jasno ukazuje na formiranje nove supramolekulske strukture. Oštri pikovi na vrednostima ugla difrakcije  $2\theta$ : 7, 13,5, 16, 19 i  $27^\circ$  u difraktogramu kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin pokazuju da u inkluzionom kompleksu nije ceo molekul kurkumina ušao u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Ovo je razumljivo s obzirom da je za jedan molekul kurkumina potrebno dva molekula 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina da bi se ceo molekul kurkumina inkludovao u šupljine 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (Celebioglu i Uyar, 2020). Rendgenski difraktogram fizičke smeše kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 33d) sadrži pikove koji su prisutni u difraktogramu čistog kurkumina (slika 33a) i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 33b) što potvrđuje da je reč o jednostavnoj smeši ovih dveju komponenti.

#### **4.2.5 DSC analiza**

Na slici 34 prikazane su DSC krive kurkumina, 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i fizičke smeše kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.



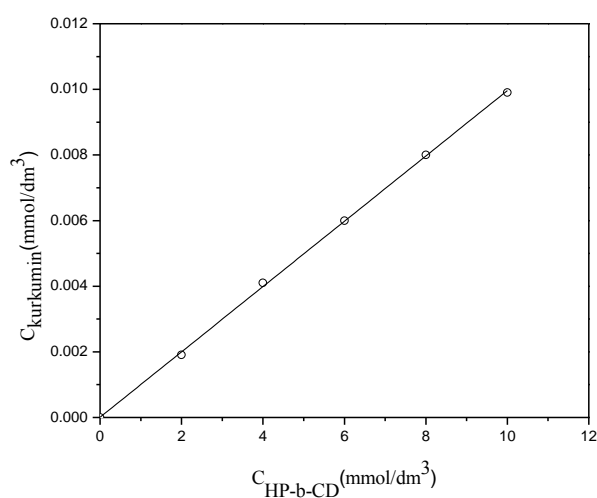
Slika 34. DSC krive: kurkumin, kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, fizička smeša kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

Na DSC krivoj koja potiče od kurkumina (slika 34) vidi se endotermni pik topljenja kurkumina sa vrhom na 188,02 °C a površina pika odgovara entalpiji topljenja kurkumina od 169,2 J/g. S obzirom da je došlo do kompleksacije kurkumina u prisustvu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, molekuli kurkumina u kompleksu ne mogu da stvore kristale kurkumina koji bi pokazali endotermni pik topljenja. Ipak, u endotermnom piku kompleksa se zapaža slabi vrh na 180,63 °C, što može ukazivati da nisu molekuli kurkumina u celosti ušli u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Entalpija topljenja je pri tom značajno smanjena i iznosi 8,51 J/g. Na DSC krivoj koja potiče od fizičke smeše kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ovaj pik je izraženiji i pojavljuje se sa vrhom na 180,89 °C, dok je entalpija topljenja značajno veća nego kod kompleksa i iznosi 66,87 J/g. Ovakvi podaci pokazuju da postoji značajna razlika u termičkim svojstvima uzoraka koji potiču od kompleksa i fizičke smeše, čime ukazuju da je došlo do izvesne inkluzije kurkumina u šupljine 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.

## 4.2.6 Fazna rastvorljivost

Analiza fazne rastvorljivosti izvršena je kako bi se odredila i uporedila moć rastvaranja i kompleksiranja 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina prema kurkuminu. Tokom ispitivanja fazne rastvorljivosti na osnovu kalibracione krive određena je koncentracija kurkumina u uzorcima primenom UV-Vis metode (odjeljak 3.3.9). Konstruisana kalibraciona kriva kurkumina  $A_{429}=0,01376+0,15529 \cdot C$  ( $R^2 = 0,996$ ) je linearana u opsegu koncentracija 0–6  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ .

Na slici 35 prikazan je dijagram fazne rastvorljivosti.



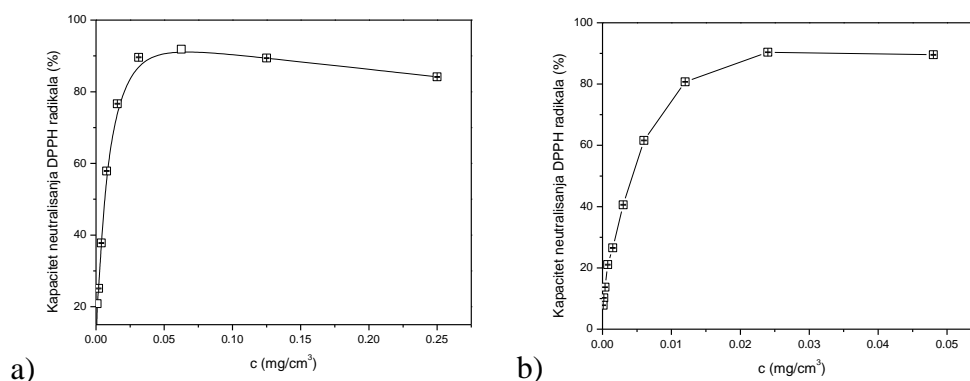
Slika 35. Dijagram fazne rastvorljivosti kurkumina u prisustvu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u vodi na 25 °C

Sa slike 35 vidi se da dijagram fazne rastvorljivosti pripada tipu „ $A_L$ “ (Higuchi i Connors, 1965). To ukazuje da je molarni odnos između molekula domaćina i gosta u inkluziji kompleksa 1:1 i da se rastvorljivost kurkumina linearno povećava sa povećanjem koncentracije 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Linearnim fitovanjem podataka sa slike 35 dobija se: nagib= $9,953 \cdot 10^{-4}$ , odsečak= $8,571 \cdot 10^{-6}$  mmol/dm<sup>3</sup>. Koristeći podatke za nagib i odsečak sa slike 35 i jednačinu 7 (odjeljak 2.2.4) dobija se vrednost konstante stabilnosti kompleksa kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina:  $K_{1:1}=116,23$ , a efikasnost solubilizacije iznosi 1237,18 i predstavlja odnos rastvorljivosti kurkumina u vodi u prisustvu najveće ispitivane koncentracije 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ( $0,0106$  mmol/dm<sup>3</sup>) i rastvorljivosti čistog kurkumina u vodi ( $8,571 \cdot 10^{-6}$  mmol/dm<sup>3</sup>).

## 4.2.7 Antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

### 4.2.7.1 DPPH test

Antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ispitana je DPPH testom i dobijeni rezultati nakon 20 min inkubacije prikazani su na slici 36.



Slika 36. Antioksidativna aktivnost: a) kurkumina i b) kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

Kapacitet neutralizacije DPPH radikala kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina povećava se sa povećanjem primenjene koncentracije rastvora (slika 36).

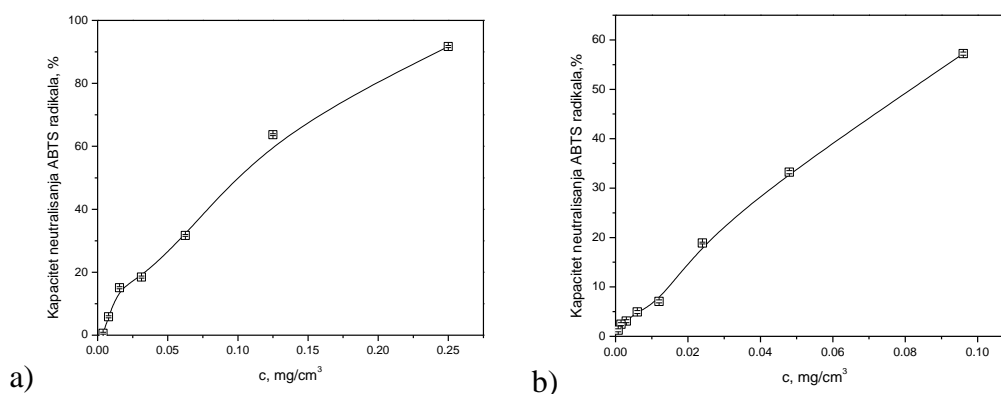
Primenom rastvora kurkumina koncentracije  $0,03125 \text{ mg}/\text{cm}^3$  kapacitet neutralisanih DPPH radikala iznosi 89,53%, dok se sa povećanjem koncentracije rastvora kurkumina na  $0,0625 \text{ mg}/\text{cm}^3$  neutrališe 91,84 % DPPH radikala što ujedno predstavlja maksimalnu vrednost kapaciteta neutralizacije DPPH radikala. Vrednost  $EC_{50}$ , koja predstavlja koncentraciju kurkumina koja neutrališe 50% početne koncentracije DPPH radikala je  $0,00677 \pm 3,33 \times 10^{-4} \text{ mg}/\text{cm}^3$ . U rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina procenat neutralisanih DPPH radikala nakon 20 min inkubacije naglo raste sa povećanjem koncentracije kurkumina. Rastvor inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u kome je koncentracija kurkumina  $0,012 \text{ mg}/\text{cm}^3$  neutrališe 80,65% DPPH radikala.



Maksimalna vrednost kapaciteta neutralizacije DPPH radikala iznosi 90,31% i postiže se pri koncentraciji kurkumina  $0,024 \text{ mg/cm}^3$  u rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. Vrednost  $EC_{50}$  za kurkumin u rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina je  $0,0044 \pm 8,22 \times 10^{-5} \text{ mg/cm}^3$ . Sintetički antioksidant BHT nakon 20 minuta inkubacije sa DPPH radikalom pokazuje  $EC_{50}$  vrednost od  $0,021 \text{ mg/cm}^3$  (Stanojevic i sar., 2015). Vrednosti za  $EC_{50}$  za BHT, kurkumin i inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin opadaju sledećim redosledom  $0,021 \text{ mg/cm}^3 > 0,00677 \text{ mg/cm}^3 > 0,0044 \text{ mg/cm}^3$ , redom i pokazuju da se antioksidativna aktivnost kurkumina povećala oko 1,52 puta nakon kompleksiranja sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom.

#### 4.2.7.2 ABTS test

Zavisnost kapaciteta neutralizacije ABTS radikala od koncentracije čistog kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina nakon 6 min inkubacije prikazana je na slici 37.



Slika 37. Kapacitet neutralizacije ABTS radikala: a) kurkumina i b) kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

Kapacitet neutralizacije ABTS radikala kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin povećava se sa povećanjem koncentracije rastvora nakon 6 min inkubacije (slika 37).

Maksimalna vrednost kapaciteta neutralizacije ABTS radikala čistog kurkumina iznosi 91,69% i postže se pri koncentraciji kurkumina  $0,25 \text{ mg/cm}^3$ , dok se maksimalna vrednost kapaciteta neutralizacije od 56,92% postiže pri koncentraciji kurkumina  $0,096 \text{ mg/cm}^3$  u rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. U radu Bayomi i saradnika primenom ABTS testa maksimalna vrednost kapaciteta neutralizacije ABTS radikala kurkumina iznosi 87,64% i nešto je manja od vrednosti koja je dobijena u ovom istraživanju (Bayomi i sar., 2013). Vrednost  $EC_{50}$ , koja predstavlja koncentraciju kurkumina koja neutrališe 50% početne koncentracije ABTS radikala je  $0,098 \pm 3 \times 10^{-4} \text{ mg/cm}^3$ , dok za kurkumin u rastvoru inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina iznosi  $0,083 \pm 1 \times 10^{-3} \text{ mg/cm}^3$ . Rezultati ABTS testa pokazuju da se antioksidativna aktivnost kurkumina povećava kompleksacijom sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom.

#### 4.2.7.3 FRAP test

FRAP test je kolorimetrijski test koji se zasniva na određivanju kapaciteta antioksidanta za doniranje elektrona u procesu redukcije feri-tripiridil triazina do ferotripiridil triazina pri niskoj pH vrednosti (Bhullar i sar., 2013). Rastvor kompleksa ferotripiridil triazina je plave boje i maksimum aposorbance pokazuje na 593 nm. Rezultati FRAP testa pokazuju da kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin koncentracije  $0,024 \text{ mg/cm}^3$  pokazuje veću redukcionu sposobnost (FRAP vrednost  $532,53 \text{ mg Fe}^{2+}/\text{g}_{\text{kurkumina}}$ ) u odnosu na čist kurkumin koncentracije  $0,125 \text{ mg/cm}^3$  (FRAP vrednost  $520,63 \text{ mg Fe}^{2+}/\text{g}_{\text{kurkumina}}$ ).

Rezultati dobijeni primenom DPPH, ABTS i FRAP testa pokazuju da se antioksidativna aktivnost kurkumina povećala kompleksacijom sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom. Razlog ovome je, verovatno, povećana rastvorljivost kurkumina koja je postignuta kompleksacijom.

#### 4.2.8 Antimikrobna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina

Rezultati dobijeni ispitivanjem antimikrobne aktivnosti čistog kurkumina u opsegu koncentracija 0,003-25,0 mg/cm<sup>3</sup>, pripremljenog inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u kome je koncentracija kurkumina u opsegu  $5,8 \times 10^{-4}$  do 4,82 mg/cm<sup>3</sup> i standardnih antimikrobnih agenasa prikazani su u tabeli 14.

Tabela 14. Antimikrobna aktivnost kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

Testirani uzorci		Kurkumin	Kurkumin u kompleksu	Antibiotik
Mikrobni sojevi	Izvor	MIC/MBC (mg/cm <sup>3</sup> )	MIC/MBC (mg/cm <sup>3</sup> )	MIC/MBC ( $\mu$ g/cm <sup>3</sup> )
<b>Gram (+) bakterije</b>	ATCC			<i>Floramfenikol</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	0,39/25,0	0,037/4,82	7,81/15,61
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	0,78/25,0	0,005/4,82	3,91/7,81
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6301	1,56/>25,0	0,134/>4,82	0,06/0,12
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	0,39/25,0	0,037/4,82	0,25/0,49
<i>Bacillus cereus</i>	11778	0,19/>25,0	0,037/>4,82	7,81/15,61
<b>Gram (-) bakterije</b>	ATCC			<i>Streptomycin</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	12,5/>25,0	0,037/>4,82	0,60/0,60
<i>Salmonella enteritidis</i>	13076	0,78/>25,0	0,075/>4,82	0,30/0,30
<i>Escherichia coli</i>	8739	12,5/>25,0	0,037/>4,82	0,16/0,16
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	12,5/>25,0	0,134/>4,82	0,60/0,60
<b>Gljivica</b>	ATCC	MIC/MFC (mg/cm <sup>3</sup> )	MIC/MFC (mg/cm <sup>3</sup> )	<i>Nistatin</i> ( $\mu$ g/cm <sup>3</sup> )
<i>Candida albicans</i>	24433	25,0/>25,0	0,037/>4,82	3,91/7,81

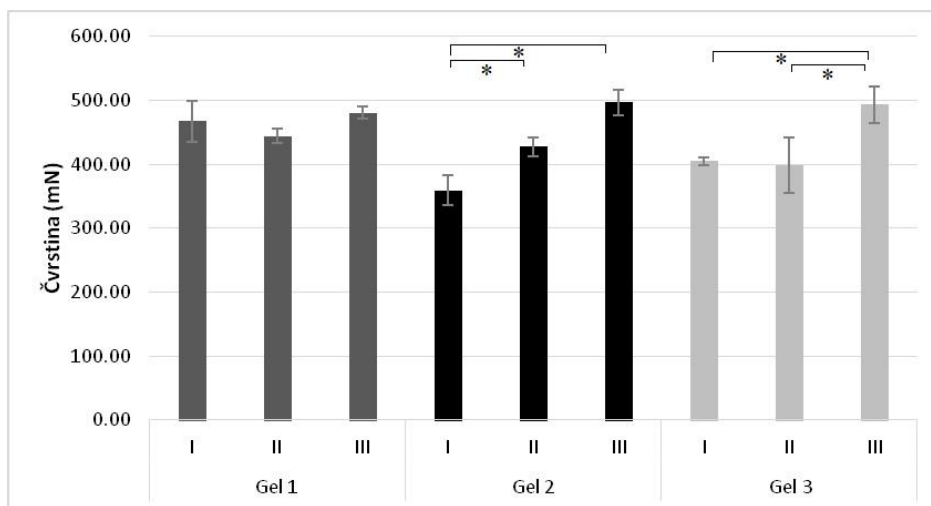
Na osnovu rezultata koji su prikazani u tabeli 14 može se zaključiti da čist kurkumin i kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin pokazuju antibakterijsku aktivnost na sve testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske sojeve i antifungalnu aktivnost na ispitivani soj *C. albicans*. Čist kurkumin deluje inhibitorno na sve testirane sojeve u opsegu MIC (0,19–12,5 mg/cm<sup>3</sup>) i baktericidno pri vrednosti MBC od 25 mg/cm<sup>3</sup> na sojeve *S. aureus*, *E. faecalis* i *S. pyogenes*, dok je za ostale sojeve vrednost MBC veća od 25 mg/cm<sup>3</sup>.

Dobijeni rezultati pokazuju da je antibakterijsko dejstvo kurkumina izraženije na Gram (+) bakterije što je u skladu sa podacima u literaturi (Adamczak i sar., 2020). *Bacillus cereus* je najosetljiviji na dejstvo čistog kurkumina i vrednost MIC iznosi 0,19 mg/cm<sup>3</sup>. *Bacillus cereus* je fakultativno anaerobna Gram (+) bakterija koja proizvodi toksine i nalazi se u zemljištu, biljnom svetu i hrani. Obično izaziva crevna oboljenja sa mučninom, povraćanjem i dijarejom. U radu Wang i saradnika rezultati istraživanja pokazali su da kurkumin ima potencijal da se primeni kao prirodni konzervans za kontrolu rasta mikroorganizma kvarenja (*B. cereus*) i produženje roka trajanja svežih rezanaca prosa. Vrednost MIC kurkumina protiv *B. cereus* iznosi 0,125 mg/cm<sup>3</sup> (Wang i sar., 2020) i približna je vrednosti koja je dobijena u ovom istraživanju. Rezultati prikazani u tabeli 14 pokazuju povećanje antimikrobne (antibakterijske i antifungalne) aktivnosti kurkumina kompleksacijom sa 2-hidroksipropil-β-ciklodekstrinom. Vrednosti MIC za kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin kreću se u opsegu 0,005-0,134 mg/cm<sup>3</sup>, dok vrednost za MBC iznosi 4,82 mg/cm<sup>3</sup> za sojeve *S. aureus*, *E. faecalis* i *S. pyogenes*, a za ostale sojeve je vrednost MBC veća od 4,82 mg/cm<sup>3</sup> (tabela 14). Najniža vrednost MIC (5 μg/cm<sup>3</sup>) za kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin postignuta je za soj *E. faecalis* i vrlo je bliska vrednosti MIC (3,91 μg/cm<sup>3</sup>) za ispitivani antibiotik Hloramfenikol i čak 156 puta manja od dobijene vrednosti MIC (0,78 mg/cm<sup>3</sup>) za čist kurkumin za isti soj mikroba. Najniža vrednost MIC (5 μg /cm<sup>3</sup>) za kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin je 38 puta manja od najniže vrednosti za čist kurkumin (0,19 mg/cm<sup>3</sup>), dok je najniža vrednost MBC (4,82 mg/cm<sup>3</sup>) za kurkumin u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin 5 puta manja od najniže vrednosti MBC (25 mg/cm<sup>3</sup>) za čist kurkumin. Povećana efikasnost kurkumina u inkluzionom kompleksu verovatno je rezultat povećanja njegove rastvorljivosti u vodi.

#### 4.2.9 Analiza teksture

Vrednosti praćenih parametara teksturne analize (čvrstina, adhezivnost, kohezivnost, rezilijentnost i elastičnost) praznog Karbopol<sup>®</sup> gela (Gel 1), gela sa inkluzionim kompleksom kurkumina (Gel 2) i kurkuminom (Gel 3) tokom 14 dana prikazani su na slikama 38-42.

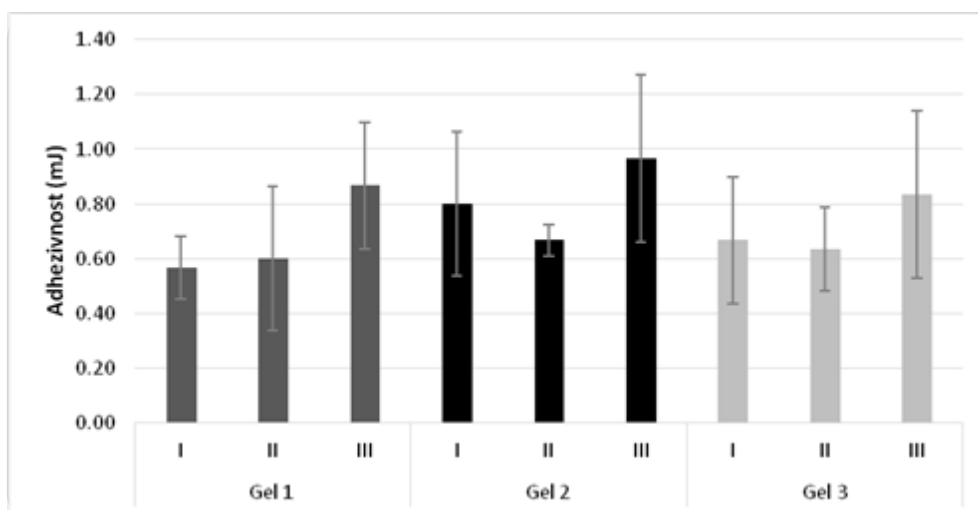
Čvrstina je parametar koji predstavlja otpornost ispitivanog uzorka prema primenjenoj sili pritiska (Cevher i sar., 2008; Martinović i sar., 2022). Čvrstina uzoraka merena je pri prvom uranjanju sonde i rezultati su prikazani na slici 38.



Slika 38. Čvrstina ispitivanih uzoraka (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) nakon izrade (I), 7 dana nakon izrade (II) i 14 dana nakon izrade (III). Statistički značajna razlika prikazana je pomoću \* ( $p < 0,05$ )

Analizom dobijenih vrednosti (slika 38) primećeno je statistički značajno povećanje čvrstine uzorka gela sa inkluzionim kompleksom kurkumina (Gel 2) i gela sa kurkuminom (Gel 3) nakon 14 dana od trenutka izrade. Inkluzioni kompleks sa kurkuminom i kurkumin uticali su na struktuiranje gela, dok se vrednosti čvrstine nisu statistički značajno promenile kod praznog Karbopol<sup>®</sup> gela (Gel 1). U trenutku izrade, prisustvo inkluzionog kompleksa kurkumina i kurkumina u gelu rezultiralo je smanjenjem čvrstine gela (Gel 2 i Gel 3) u poređenju sa čvrstinom praznog Karbopol<sup>®</sup> gela (Gel 1), da bi nakon 14 dana od trenutka izrade, svi gelovi (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) imali skoro iste vrednosti čvrstine što ukazuje na pozitivan uticaj bioaktivne supstance na stabilnost hidrogelova.

Adhezivnost predstavlja silu koja je potrebna da bi se savladale privlačne sile koje nastaju između sonde i preparata, odnosno opisuje lepljivost ispitivanih preparata (Cevher i sar., 2008; Martinović i sar., 2022). Na slici 39 prikazane su vrednosti adhezivnosti ispitivanih uzoraka gela (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) tokom perioda od 14 dana.

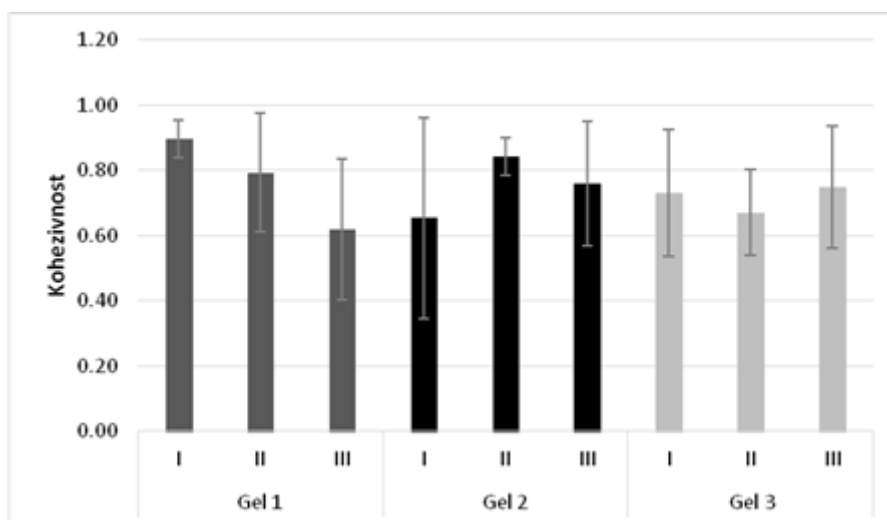


Slika 39. Adhezivnost ispitivanih uzoraka (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) nakon izrade (I), 7 dana nakon izrade (II) i 14 dana nakon izrade (III)

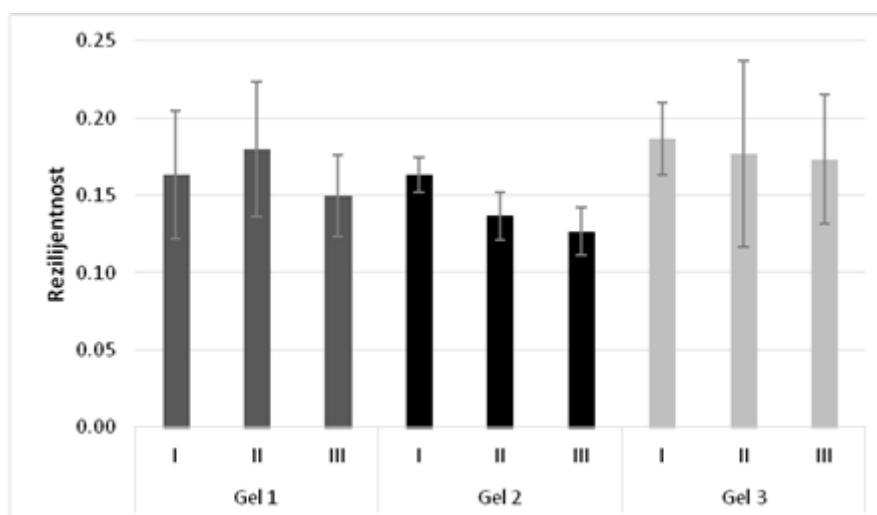
Rezultati ispitivanja (slika 39) pokazali su da ne postoje statistički značajne razlike u vrednostima adhezivnosti sva tri ispitivana uzorka gela (Gel 1, Gel 2 i Gel 3), što ukazuje na to da prisustvo inkluzionog kompleksa kurkumina i kurkumina u gel nije uticalo na lepljivost gela.

Kohezivnost je parametar koji određuje da li će usled delovanja sile na formulaciju doći do promene strukturnog integriteta formulacije. Za adekvatnu primenljivost formulacije poželjno je da usled delovanja sile ne dođe do narušavanja strukturnog integriteta iste. Rezilijentnost je parametar koji predstavlja otpornost formulacije, odnosno određuje na koji način će se formulacija nositi sa stresom kome je izložena. Otpornost ukazuje na sklonost formulacije da se vrati u početni položaj nakon deformacije. Izračunava se kao odnos energije potrebne za ulazak sonde u formulaciju i izlazak sonde iz nje. Još jedan važan parametar koji utiče na strukturne karakteristike formulacije je elastičnost i određuje se nakon drugog ciklusa kompresije i odnosi se na elastični oporavak formulacije nakon deformacije (Cevher i sar., 2008; Martinović i sar., 2022).

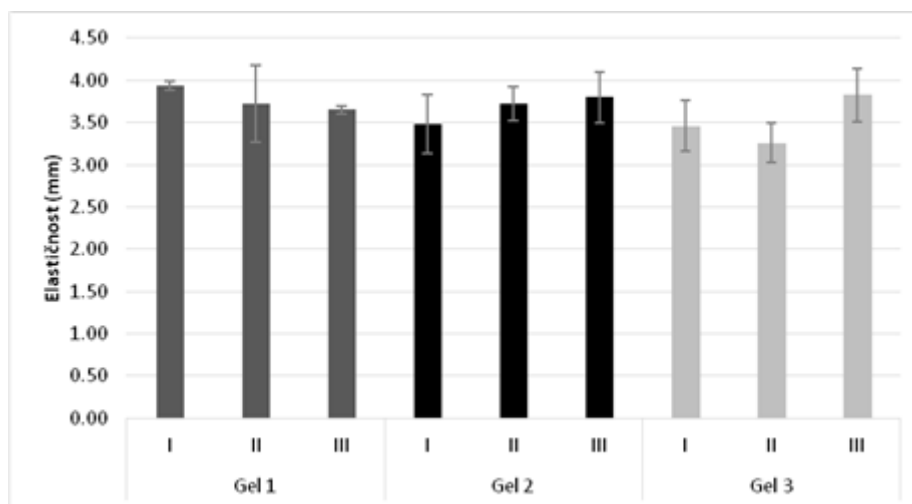
Vrednosti za kohezivnost, rezilijentnost i elastičnost ispitivanih uzoraka gela (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) tokom perioda od 14 dana prikazane su na slikama 40, 41 i 42 redom.



Slika 40. Kohezivnost ispitivanih uzoraka (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) nakon izrade (I), 7 dana nakon izrade (II) i 14 dana nakon izrade (III)



Slika 41. Rezilijentnost ispitivanih uzoraka (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) nakon izrade (I), 7 dana nakon izrade (II) i 14 dana nakon izrade (III)



Slika 42. Elastičnost ispitivanih uzoraka (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) nakon izrade (I), 7 dana nakon izrade (II) i 14 dana nakon izrade (III)

Rezultati prikazani na slikama 40, 41 i 42 ne pokazuju statistički značajne promene vrednosti teksturnih parametara (kohezivnost, rezilijentnosti i elastičnost) ispitivanih gelova (Gel 1, Gel 2 i Gel 3) tokom perioda od 14 dana. Takođe, ne postoje statistički značajne promene vrednosti ovih parametara između ispitivanih gelova (Gel 1, Gel 2 i Gel 3).

Na osnovu rezultata prikazanih na slikama 38-42 može se zaključiti da inkorporiranje inkluzionog kompleksa kurkumina i kurkumina u Karbopol<sup>®</sup> gel nije dovelo do statistički značajnih promena teksturnih karakteristika Karbopol<sup>®</sup> gela, odnosno da nije negativno uticalo na teksturne karakteristike gela. Takođe, izostanak statistički značajnih promena teksturnih parametara tokom perioda od 14 dana u odnosu na trenutak izrade, može potencijalno implicirati fizičku stabilnost formulacija (Gel 2 i Gel 3).

Imajući u vidu da kurkumin ispoljava širok spektar farmakoloških aktivnosti (antioksidativno, antiinflamatorno, antibakterijsko itd.), ovako dizajnirane formulacije (Gel 2 i Gel 3) mogu se primeniti za topikalnu primenu što je u skladu sa podacima u literaturi (Patel i sar., 2009; Kim i sar., 2016; Shuja i sar., 2023).



### 4.3 P(NiPMAM-ko-NiPAM) kao nosač inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin

#### 4.3.1 Inkorporiranje kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin u sintetisane p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelove

S obzirom da se kurkumin ne rastvara u vodenim medijumima unošenje kurkumina u hidrogel je ostvareno inkorporiranjem kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin u uzorke hidrogelova. Efikasnost inkorporiranja kurkumina,  $\eta$ , izračunavana je primenom jednačine 14, i to u odnosu na ukupno raspoloživu početnu masu kurkumina u kompleksu. Podaci su prikazani u tabeli 15.

$$\eta(\%) = \frac{L_g}{L_u} \cdot 100 \quad (14)$$

gde je  $L_g$  masa inkorporiranog kurkumina u p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogel, mg/g<sub>kserogela</sub>, a  $L_u$  početna masa kurkumina uneta kroz rastvor inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin za bubrenje i inkorporiranje u kserogel, mg/g<sub>kserogela</sub>.

Tabela 15. Masa i efikasnost inkorporiranja kurkumina ( $\eta$ ) u kserogelove p(NiPMAM-ko-NiPAM).

Uzorak	$L_{g_{kurkumina}}$ (mg/g <sub>kserogela</sub> )	$\eta$ kurkumina (%)
10/90/2	94,51	78,35
10/90/3	80,16	67,58
20/80/2	37,04	32,03
20/80/3	68,28	58,38
30/70/2	59,98	50,21
30/70/3	85,05	71,20
40/60/2	64,57	52,69
40/60/3	80,60	68,00
50/50/2	54,70	44,90
50/50/3	80,88	66,65

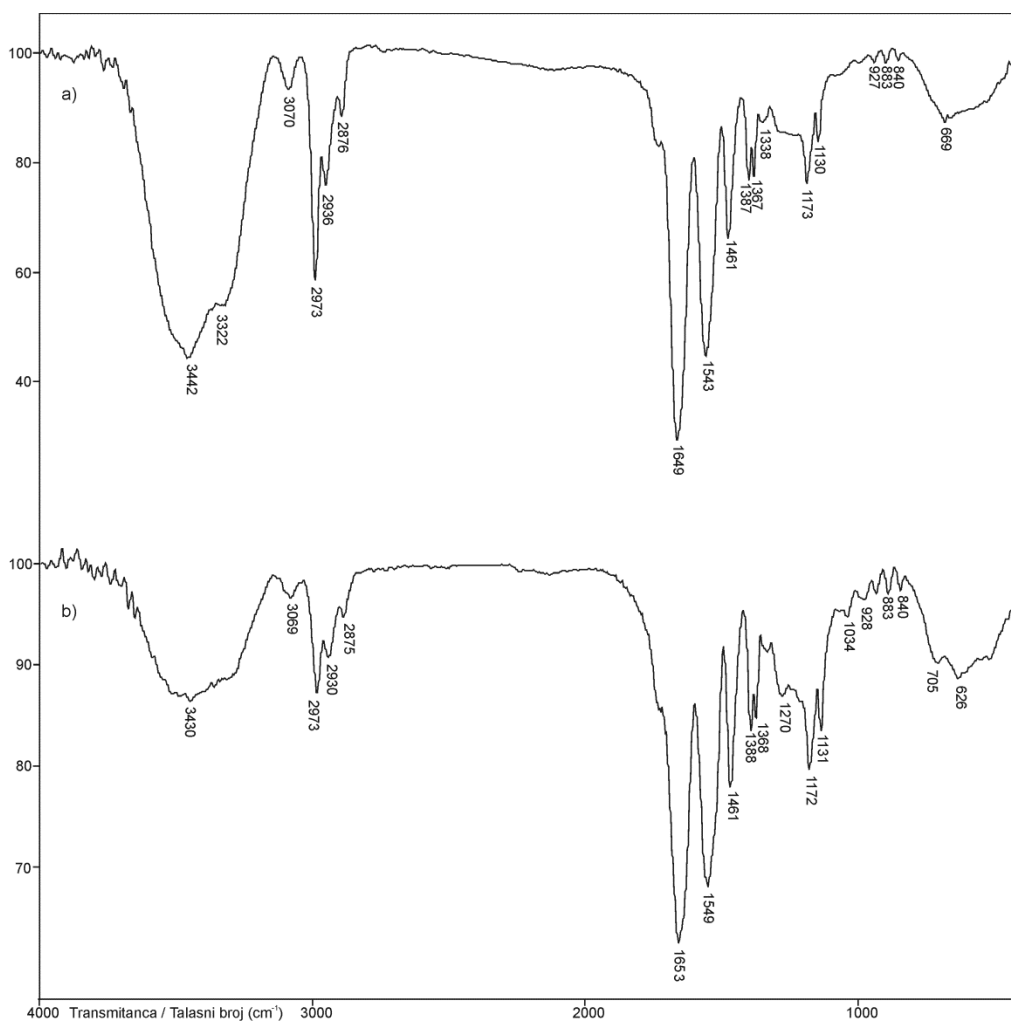
Efikasnost inkorporiranja kurkumina iz inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin u p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelove sa 2 mol% EGDM-a kreće se od 32,03 do 78,35%, a za p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogelove sa 3 mol% EGDM-a od 58,38 do 71,20%. Bolja efikasnost inkorporiranja kurkumina zapaža se kod uzoraka sa većim sadržajem EGDM-a osim kod uzorka 10/90 gde je efikasnost inkorporiranja kurkumina veća kod uzorka za 2 mol% EGDM-a, nego kod uzorka sa 3 mol% EGDM-a.

Ove vrednosti su zadovoljavajuće s obzirom da je rastvorljivost kurkumina u vodi veoma mala. Kompleksacijom sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom je njegova rastvorljivost povećana 1237 puta i to omogućava lakše inkorporiranje u sintetisane hidrogelove kao i otpuštanje u fiziološkim medijumima.

### 4.3.2 FTIR analiza

Inkorporiranjem kurkumina u p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelove očekuje se uspostavljanje intermolekulskih interakcija po tipu vodonične veze između fenolnih OH grupa kurkumina kao proton-donora, sa kiseonikom iz C=O grupe proton akceptora, bočnih lanaca kopolimera p(NiPMAM-ko-NiPAM). Takođe, C=O grupa iz kurkumina može da formira vodonične veze sa NH grupama donorima protona bočnih lanaca p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova.

FTIR metoda primenjena je za strukturnu karakterizaciju matriks sistema, p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogelova u kome je inkorporiran inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. Na slici 43 prikazani su FTIR spektri p(NiPMAM-ko-NiPAM) kserogela 10/90/2 i matriks sistema, p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogela 10/90/2 u kome je inkorporiran inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.



Slika 43. FTIR spektri: a) p(NiPMAM-ko-NiPAM) kopolimer 10/90/2 i b) p(NiPMAM-ko-NiPAM) kopolimer 10/90/2 sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin

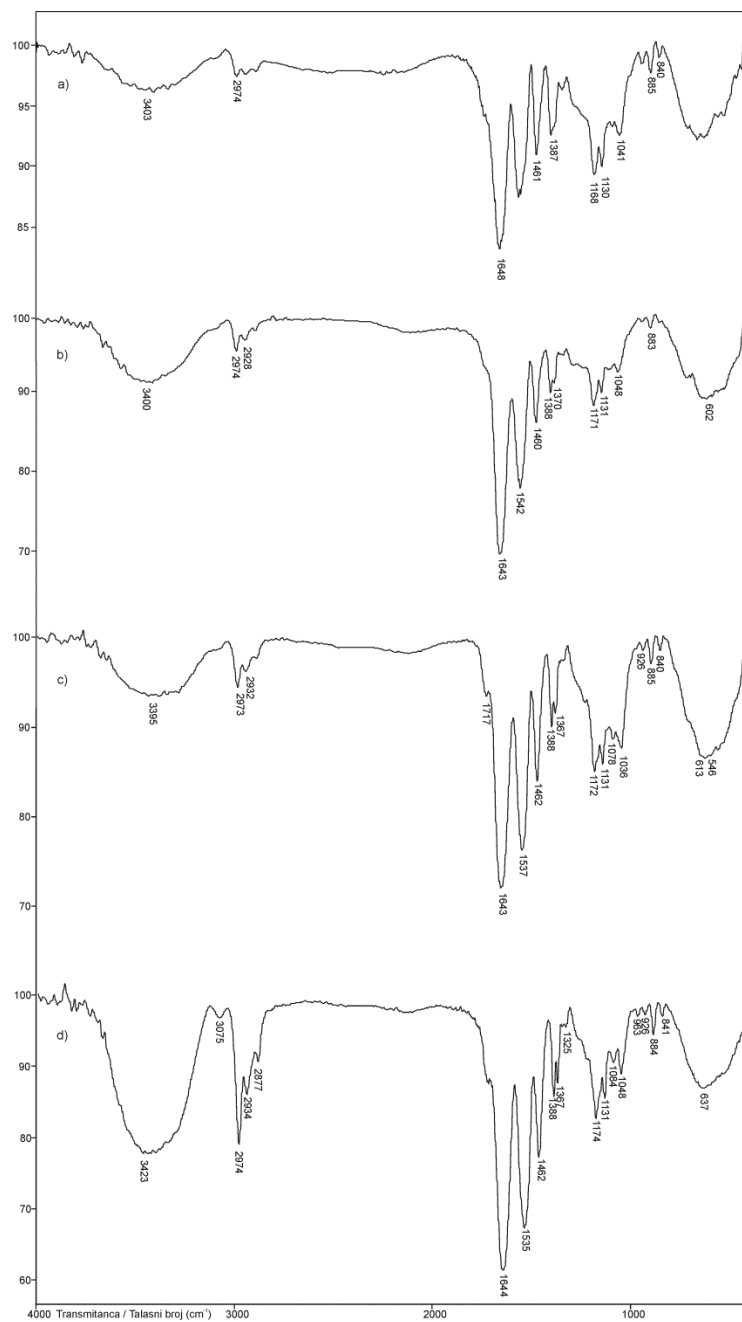
U FTIR spektru p(NiPMAM-ko-NiPAM) hidrogela 10/90/2 sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrinom (slika 43b) u oblasti talasnih brojeva od 3500-3200 cm<sup>-1</sup> uočava se široka apsorpciona traka sa maksimumom na 3430 cm<sup>-1</sup> koja potiče od valencionih vibracija N-H veze hidrogela i valencionih vibracija fenolne OH grupe kurkumina.

Maksimum ove trake je pomeren za 12 jedinica ka nižim talasnim brojevima u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru praznog hidrogela (slika 43a), i za 9 jedinice ka višim talasnim brojevima u odnosu na položaj trake u FTIR spektru kurkumina (slika 29a) što ukazuje da pomenute grupe učestvuju u građenju vodoničnih veza između molekula kurkumina i hidrogela.

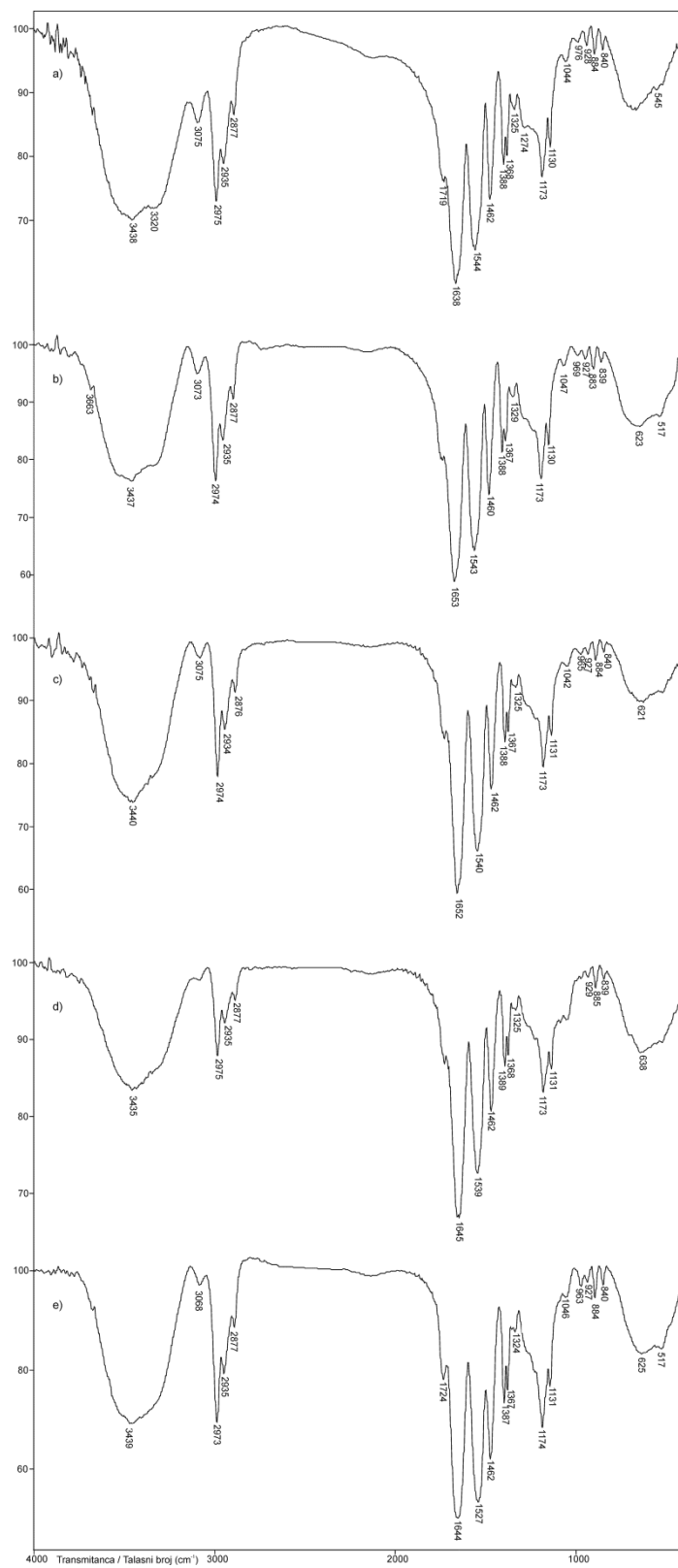
Amidna traka I,  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , javlja se na  $1653\text{ cm}^{-1}$ , dok se amidna traka II,  $\delta(\text{N-H})$ , javlja na  $1549\text{ cm}^{-1}$ , i njihovi maksimumi su pomereni za 4, odnosno 6 jedinice ka višim talasnim brojevima, u odnosu na njihov položaj u FTIR spektru praznog hidrogela (slika 43a). Maksimum apsorpcije koji potiče od valencionih vibracija C=O grupe u FTIR spektru hidrogela sa inkorporiranim kurkuminom (slika 43b) pomeren je za 26 jedinica ka višim talasnim brojevima u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru kurkumina (slika 29a). Pomeranje maksimuma amidnih traka i smanjenje njihovog intenziteta u FTIR spektru hidrogela sa inkorporiranim kurkuminom u odnosu na FTIR spektar praznog hidrogela ukazuje na učešće C=O i -NH grupa u formiranju vodoničnih veza. Apsorpciona traka koja potiče od valencionih vibracija C-O-C veze postoji sa maksimumom na  $1034\text{ cm}^{-1}$  i pomeren je ka višim talasnim brojevima za 3 jedinica u odnosu na položaj iste trake u FTIR spektru kurkumina.

Rezultati FTIR analize pokazuju da dolazi do promene intenziteta i pomeranja karakterističnih traka kurkumina i hidrogela ka nižim ili višim vrednostima talasnih brojeva, što ukazuje na inkorporiranje kurkumina u strukturu hidrogela.

FTIR spektri matriks sistema, p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera (10/90, 20/80, 30/70, 40/60 i 50/50) sa 2 i/ili 3 mol% EGDM-a sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin prikazani su na slikama 44 i 45. FTIR spektri prikazani na slikama 44 i 45 slični su FTIR spektru matriks sistema koji je prikazan na slici 43b. Pomeranje maksimuma karakterističnih traka ka nižim ili višim vrednostima talasnih brojeva i smanjenje njihovog intenziteta u odnosu na odgovarajuće apsorpcione trake u FTIR spektrima čistih hidrogelova i FTIR spektru kurkumina potvrđuje inkorporiranje kurkumina u strukturu hidrogelova.



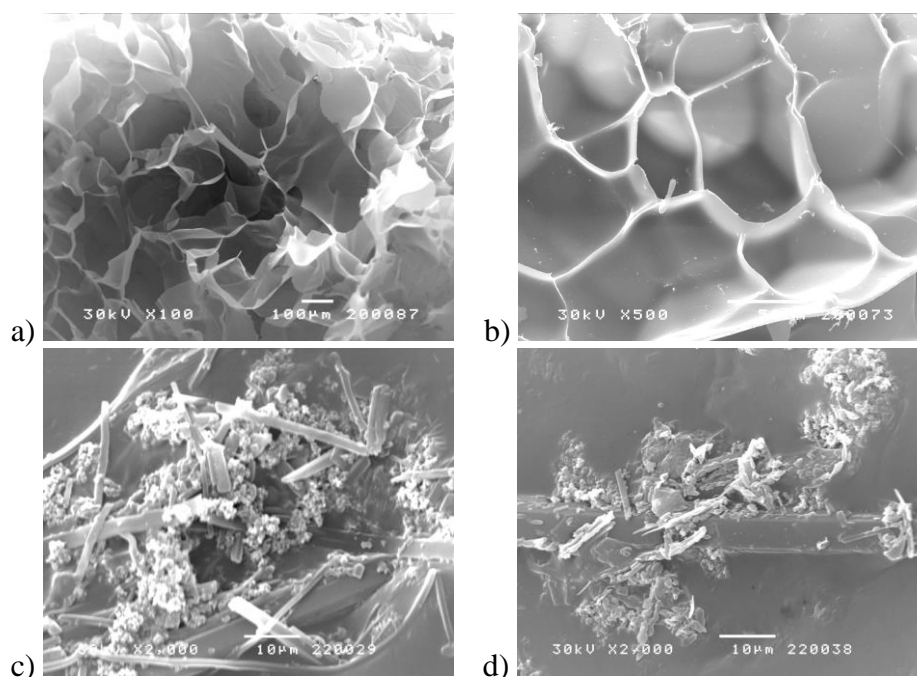
Slika 44. FTIR spektri p(NiPMAM-ko-NiPAM) kopolimer sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrinom: a) 20/80/2, b) 30/70/2, c) 40/60/2 i d) 50/50/2



Slika 45. FTIR spektri p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimer sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin: a) 10/90/3, b) 20/80/3, c) 30/70/3, d) 40/60/3 i e) 50/50/3

### 4.3.3 SEM analiza

Morfologija sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova (10/90/2 i 30/70/3) i p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova (10/90/2 i 30/70/3) sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin ispitana je primenom SEM metode. Dobijene SEM mikrografije prikazane su na slici 46.

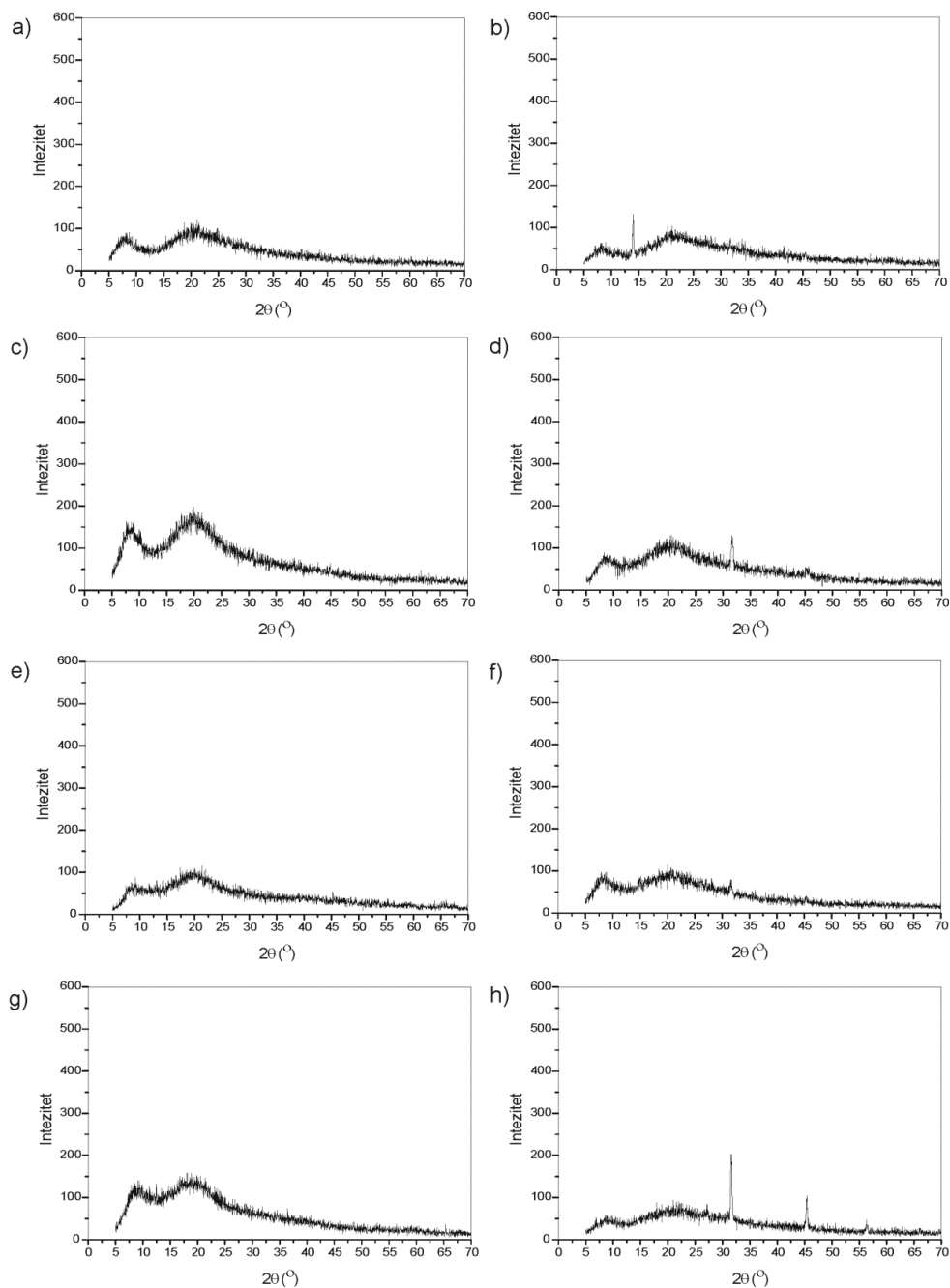


Slika 46. SEM mikrografije p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera: a) 10/90/2 i b) 30/70/3 i p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom: c) 10/90/2 i d) 30/70/3

Uporednom analizom mikrografija sintetisanih hidrogelova (slika 46a i 46b) i hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom (46c i 46d) zapaža se jasna morfološka razlika. Na mikrografiji 46c i 46d uočava se prisustvo kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin u šupljinama hidrogela čija struktura odgovara strukturi kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina (slika 32c i d). Ovo ukazuje na uspešno inkorporiranje inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u šupljine sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova i u skladu je sa rezultatima dobijenim FTIR analizom.

### 4.3.4 XRD analiza

XRD spektri sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera i p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin prikazani su na slici 47.



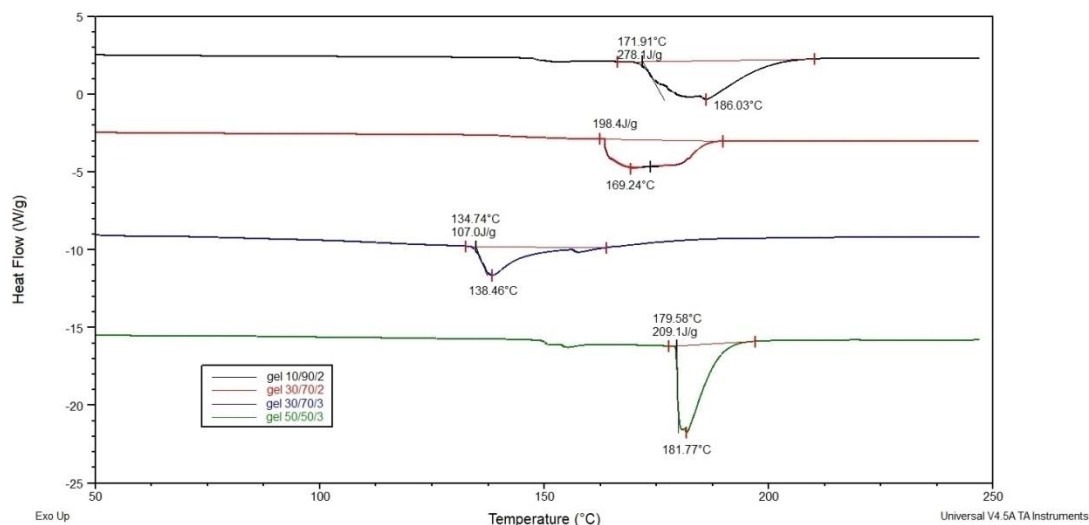
Slika 47. XRD difraktogrami p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera: a) 10/90/2, c) 30/70/2, e) 30/70/3 i g) 50/50/3 i p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom: b) 10/90/2, d) 30/70/2, f) 30/70/3 i h) 50/50/3



Uporednom analizom difraktograma praznih hidrogelova (slika 47a, c, e i g) i hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom (slika 47b, d, f i h) uočava se visoka sličnost u pogledu oblika i položaja pikova koji se javljaju kao široki u opsegu  $2\theta = 5-10^\circ$  i  $2\theta = 15-32,5^\circ$  i odgovaraju pikovima koji se javljaju u difraktogramu hidrogelova u kojima nije prisutan kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Ovo ukazuje da se struktura hidrogelova nakon inkorporiranja inkluzionog kompleksa nije bitno promenila i da se kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin relativno ravnomerno rasporedio u hidrogelovima.

#### **4.3.5 DSC analiza**

Na slici 48 prikazane su DSC krive za hidrogel 10/90/2, 30/70/2, 30/70/3 i 50/50/3 sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom. S obzirom da je došlo do kompleksacije kurkumina u prisustvu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina, a zatim je ta nadmolekulska struktura raspoređena u hidrogelu, molekuli kurkumina ne mogu da stvore kristale koji bi pokazali endotermni pik topljenja. U formulaciji kompleksa sa hidrogelom 10/90/2, 30/70/2, 30/70/3 i 50/50/3 ne zapaža se više endotermni pik od topljenja kurkumina, što ukazuje da su nadmolekulske strukture kompleksa sada već raspoređene u hidrogelu. Prisutne su samo endotermne promene koje potiču od topljenja nekih segmenata u hidrogelovima. Pikovi su široki, što je odlika polimernih struktura i temperatura maksimuma pika se smanjuje u nizu hidrogelova 10/90/2, 30/70/2 i 30/70/3 sa  $186,03^\circ\text{C}$ , preko  $169,24^\circ\text{C}$  do  $138,46^\circ\text{C}$ . Kod hidrogela sastava 50/50/3 sa kompleksom ova temperatura se ponovo povećava na  $181,77^\circ\text{C}$ . Slična je tendencija i sa entalpijama topljenja segmenata i ovi podaci su prikazani u tabeli 16.



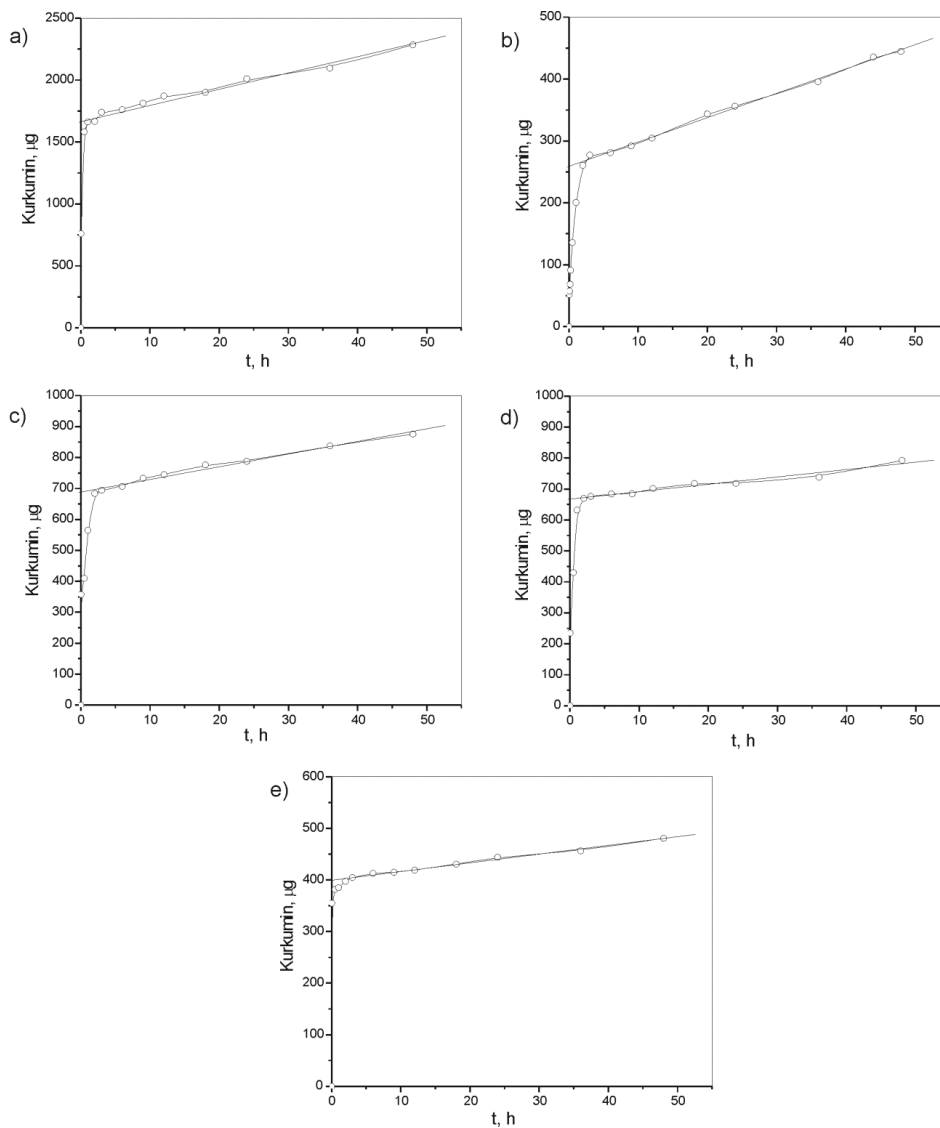
Slika 48. DSC krive različitih uzoraka hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom: 10/90/2, 30/70/2, 30/70/3 i 50/50/3

Tabela 16. Temperature maksimuma pika i entalpije topljenja segmenata različitih uzoraka hidrogelova sa inkorporiranim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin.

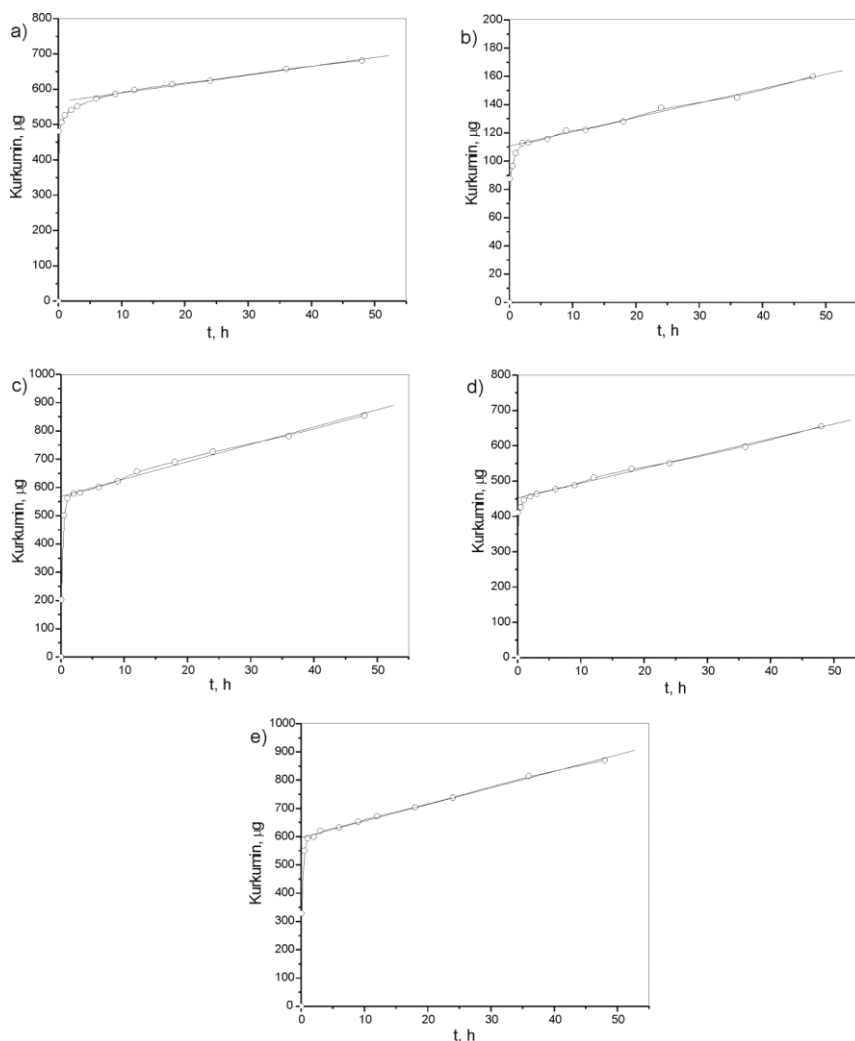
Hidrogel sa kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin	Temperatura topljenja, °C	Entalpija topljenja, J/g
10/90/2	186,03	278,1
30/70/2	169,24	198,4
30/70/3	138,46	107,0
50/50/3	181,77	209,1

#### 4.3.6 *In vitro* oslobađanje kurkumina iz p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

Oslobađanje kurkumina iz p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 i 3 mol% EGDM-a, praćeno je u *in vitro* uslovima na 37 °C i pH 7,4 koji simuliraju telesnu temperaturu i pH sredinu tankog creva, primenom HPLC metode (odjeljak 3.3.6) (slika 49 i 50). Oslobađanje kurkumina iz hidrogelova praćeno je tokom 48 h.



Slika 49. Profil osobađanja kurkumina iz p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a: a) 10/90/2, b) 20/80/2, c)30/70/2, d) 40/60/2 i e) 50/50/2



Slika 50. Profil oslobađanja kurkumina iz p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova sa 3 mol% EGDM-a: a) 10/90/3, b) 20/80/3, c)30/70/3, d) 40/60/3 i e) 50/50/3

Sa slike 49 i 50 vidi se da se dešava početno otpuštanje kurkumina za svaki uzorak p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova, ali u različitim količinama. Početna količina kurkumina koja se otpušta iz formulacija uzoraka sa 2 mol% EGDM-a kreće se od oko 400 do 1600 µg (slika 49), a oko 100 do 550 µg iz formulacije uzoraka sa 3 mol% EGDM-a (slika 50). Brzina oslobađanja kurkumina iz p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a kreće se od 1,70 do 13,13 µg/h, a iz hidrogelova sa 3 mol% EGDM-a od 1,02 do 5,86 µg/h što obezbeđuje produženo oslobađanje kurkumina u toku 15,27 – 67,81 dana, odnosno 26,21 – 146,87 dana, redom (tabela 17). Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost da se termoosetljivi p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelovi mogu primeniti za izradu formulacija sa produženim oslobađanjem kurkumina.

Tabela 17. Količina apsorbovanog i oslobođenog kurkumina, brzina oslobađanja i vreme produženog oslobađanja za uzorke matrkis sistema sa 2 i 3 mol% EGDM-a

<b>Uzorak</b>	<b>Količina apsorbovanog kurkumina, µg</b>	<b>Količina oslobođenog kurkumina, µg</b>	<b>Brzina oslobađanja, µg/h</b>	<b>Vreme produženog oslobađanja</b>
p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi sa 2 mol% EGDM-a				
10/90/2	4811	2286,35	13,127	15,27 dana
20/80/2	1967	444,618	3,929	20,86 dana
30/70/2	3083	875,315	4,094	31,38 dana
40/60/2	3235	792,489	2,386	56,50 dana
50/50/2	2757	480,817	1,694	67,81 dana
p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi sa 3 mol% EGDM-a				
10/90/3	4149	681,148	2,509	68,9 dana
20/80/3	3585	160,021	1,017	146,87 dana
30/70/3	4372	855,600	6,950	26,21 dana
40/60/3	4175	654,970	4,915	35,39 dana
50/50/3	4093	869,884	5,859	29,11 dana

Takođe, rezultati prikazani u tabeli 17 ukazuju na mogućnost prilagođavanja formulacije u pogledu količine kurkumina koja treba da se inkorporira u hidrogel pomoću kompleksa, prilagođavanje vremena i brzine oslobađanja kurkumina iz ove formulacije kao i intenziteta početnog izlivanja odabirom odgovarajućeg uzorka p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogela i promenom odgovarajuće koncentracije umreživača. Količina umreživača prilikom sinteze hidrogela će odrediti gustinu čvorova u mreži i dužinu grana u mreži hidrogela što će uticati na difuziju molekula kurkumina kroz masu hidrogela. U polimernoj mreži koja je napravljena sa više umreživača grane će biti kraće a koncentracija čvorova veća i to će usporiti difuziju molekula kurkumina što je u skladu sa dobijenim rezultatima koji su prikazani u tabeli 17, izuzev uzorka p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogela 50/50/3 iz koga je oslobođena veća količina kurkumina, nego iz uzorka p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogela 50/50/2. Produženo oslobađanje tokom dužeg vremena smanjuje učestalost primene lekova i omogućava da količina leka ostane u terapijskom opsegu duži vremenski period (Samadi i sar., 2020).

U tu svrhu može pomoći i analiza mehanizma oslobađanja kurkumina iz formulacija kompleksa u hidrogelovima. Dobijeni eksperimentalni podaci u cilju proučavanja mehanizma oslobađanja kurkumina iz p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa inkorporiranim inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil-β-ciklodekstrin fitovani su odgovarajućim matematičkim modelima: Higuchi, Korsmeyer–Peppes i Baker–Lonsdale, a izračunati parametri prikazani su u tabeli 18.

Tabela 18. Vrednosti parametara dobijenih fitovanjem eksperimentalnih podataka za svaki matematički model

Kinetički model										
Higuchi $F=k_H \cdot t^{1/2}$				Korsmeyer–Peppas $F=k_{KP} \cdot t^n$				Baker–Lonsdale $3/2[1-(1-F/100)^{2/3}]-F/100$ $=k_{BL} \cdot t$		
Parametar										
Uzorak	$k_H$	$R^2$	AIC	$k_{KP}$	$n$	$R^2$	AIC	$k_{BL}$	$R^2$	AIC
10/90/2	9,22	-0,918	97,98	33,24	0,074	0,984	41,04	0,002	-0,636	96,08
20/80/2	3,81	0,4636	73,79	9,96	0,202	0,9691	37,56	0	0,5067	72,70
30/70/2	5,65	-0,399	83,99	18,22	0,116	0,9619	41,61	0,001	-0,267	82,80
40/60/2	4,98	-0,949	84,14	17,94	0,077	0,9475	41,62	0	-0,812	83,27
50/50/2	3,57	-1,398	77,52	13,92	0,047	0,9942	6,01	0	-1,293	76,99
10/90/3	3,35	-1,147	74,81	12,49	0,063	0,996	-2,93	0	-1,054	74,27
20/80/3	0,84	-0,547	38,460	2,823	0,099	0,9798	-12,74	0	-0,529	38,32
30/70/3	3,65	-0,411	72,89	11,95	0,108	0,9776	24,02	0	-0,334	72,22
40/60/3	2,96	-0,661	69,32	10,19	0,089	0,9751	19,79	0	-0,594	68,83
50/50/3	4,02	-0,584	76,27	13,66	0,095	0,9754	27,17	0	-0,493	75,56

$k_H$ : konstanta oslobađanja u Higuchi modelu;  $R^2$ : koeficijent determinacije; AIC: Akaikov informacijski kriterijum;  $F$ : frakcija oslobođenog leka u vremenu  $t$ ;  $k_{KP}$ : konstanta oslobađanja u Korsmeyer-Peppes modelu koja uzima u obzir strukturne i geometrijske karakteristike doziranog oblika;  $n$ : eksponent oslobađanja/difuzije;  $k_{BL}$ : kombinovana konstanta oslobađanja u Baker-Lonsdale modelu (Costa i Lobo, 2001; Zhang i sar., 2010; Đorđević i sar., 2016).

Najveći koeficijent determinacije ( $R^2$ ) i najmanji AIC ukazuju da Korsmeyer-Peppes-ov model najbolje opisuje oslobađanje kurkumina iz formulacije p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. Vrednost eksponenta difuzije za uzorke p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova je u opsegu 0,047-0,2 i pokazuje da je mehanizam oslobađanja kurkumina zasnovan na difuziji iz polimerne matrice hidrogelova. Ovo definitivno potvrđuje zaključak da se odgovarajućim izborom koncentracije umreživača u postupku sinteze p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova može uticati na brzinu oslobađanja kurkumina iz formulacije hidrogela sa kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. Kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin je iskorišćen da omogući veću količinu unetog kurkumina u hidrogelove.

## 5 ZAKLJUČAK

P(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi sintetisani su radikalnom polimerizacijom na temperaturi 70-85 °C sa različitim molskim udelom NiPMAm-a i NiPAm-a (10/90; 20/80; 30/70; 40/60; 50/50; 60/40; 70/30; 80/20 i 90/10), sa 1,5; 2 i 3 mol% umreživača EGDM-a. FTIR metodom potvrđeno je nastajanje novih, umreženih struktura p(NiPMAm-ko-NiPAm) kserogelova. Odsustvo apsorpcione trake od valencionih vibracija C=C veze u FTIR spektrima kserogelova, a koje su evidentne kod monomera ukazuje da je izvršena polimerizacija. SEM mikrografija potvrđuje da sintetisani p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi imaju poroznu strukturu. Rezultati XRD analize pokazuju da je struktura sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova amorfnu. DSC analizom potvrđene su dve vrste promena stanja segmenata gelova sa promenom temperature (ostakljivanje i topljenje).

Ukupan sadržaj rezidualnih reaktanata određen primenom HPLC metode manji je od 1,8% (NiPMAm 0,02-1,17 %, NiPAm 0,20-1,74 % i EGDM 0%) što je u saglasnosti sa dozvoljenim granicama i omogućava primenu sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova kao nosača biološki aktivnih supstanci. Stepenn bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova zavisi od koncentracije umreživača EGDM-a na različitim temperaturama (25, 37, 60 i 80 °C) i pH vrednostima (4, 7,4 i 8) rastvora. Promena pH vrednosti neznatno utiče na ravnotežni stepenn bubrenja sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova na ispitivanim temperaturama. Sa povećanjem temperature od 25 do 80 °C smanjuje se stepenn bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova što ih svrstava u grupu negativno termoosetljivih hidrogelova. Zapreminski fazni prelaz dešava se na temperaturi od 37 °C i pruža mogućnost njihove primene kao nosača za različite vrste lekovitih supstanci. Anomalni tip difuzije, relaksacija polimernih lanaca i difuzija vodenog rastvora kontrolišu proces bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova na pH 7,4 i 25 °C. Bubrenje p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova modelovano je centralnim kompozitnim dizajnom sa dve promenljive. Kvadratni model najbolje opisuje proces ravnotežnog bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova u zavisnosti od sastava kopolimera i temperature okolnog medijuma.

Inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin uspešno je pripremljen koprecipitacionom metodom. Strukturna karakterizacija dobijenog inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina izvršena je primenom FTIR, <sup>1</sup>H-NMR, XRD, DSC i SEM metode. Rezultati primenjenih metoda dokazuju inkorporiranje kurkumina u šupljinu 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina.

Ispitivanjem fazne rastvorljivosti pokazano je da se inkorporiranjem u 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin, rastvorljivost kurkumina u vodi povećava sa  $8,57143 \cdot 10^{-6}$  mmol/dm<sup>3</sup> na  $0,0106$  mmol/dm<sup>3</sup>, odnosno 1237,18 puta i da je molski odnos kurkumina i 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u inkluzionom kompleksu 1:1. DPPH, ABTS i FRAP testom ispitana je antioksidativna aktivnost kurkumina i inkluzionog kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina. Nakon kompleksiranja sa 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinom povećala se antioksidativna aktivnost kurkumina. Rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti kurkumina i kurkumina u inkluzionom kompleksu kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina pokazuju jaču antimikrobnu aktivnost kurkumina u inkluzionom kompleksu što je verovatno posledica njegove povećane rastvorljivosti u vodi.

Teksturnom analizom hidrofilnog Karbopol<sup>®</sup> gela sa dispergovanim kurkuminom i inkluzionim kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin pokazano je da kurkumin i inkluzioni kompleks kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina ne dovode do statistički značajnih promena teksturnih parametara Karbopol<sup>®</sup> gela i da su ovako pripremljene formulacije fizički stabilne u periodu od 14 dana.

Kurkumin je uspešno inkorporiran u hidrogelove inkorporiranjem kompleksa kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrina u uzorke hidrogelova. Postignuta je zadovoljavajuća efikasnost inkorporiranja kurkumina u hidrogelove (32,03-78,35%). Hidrogelovi sa inkorporiranim kurkuminom strukturno su okarakterisani primenom FTIR, SEM, XRD i DSC metode. Rezltati primenjenih metoda potvrđuju prisustvo kurkumina u strukturi hidrogelova. Oslobođanje kurkumina iz sintetisanih p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova je u saglasnosti sa rezultatima bubrenja tj. sa povećanjem sadržaja umreživača, smanjuje se količina oslobođenog kurkumina, osim za uzorak 50/50/3 koji oslobodi veću količinu kurkumina u odnosu na uzorak 50/50/2. Sintetisani p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelovi obezbeđuju produženo oslobađanje kurkumina u toku 15,27 – 146,87 dana. Oslobođanje kurkumina iz formulacije p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa kompleksom kurkumin:2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin najbolje opisuje Korsmeyer-Peppas-ov model, dok je mehanizam oslobađanja kurkumina zasnovan na difuziji iz polimerne matrice hidrogelova.



## 6 LITERATURA

- Abd El-Mohdy, H.L. Water sorption behavior of CMC/PAM hydrogels prepared by  $\gamma$ -irradiation and release of potassium nitrate as agrochemical. *Reactive and Functional Polymers* 2007, 67(10), 1094-1102.
- Adamczak, A.; Ożarowski, M.; Karpiński, T.M. Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals* 2020, 13(7), 153.
- Adepu, S.; Ramakrishna, S. Controlled drug delivery systems: current status and future directions. *Molecules* 2020, 26(19), 5905.
- Aghabegi Moghanjoughi, A.; Khoshnevis, D.; Zarrabi, A. A concise review on smart polymers for controlled drug release. *Drug Delivery and Translational Research* 2016, 6, 333–340.
- Alenichev, I.; Sedláková, Z.; Ilavský, M. Swelling and mechanical behavior of charged poly(*N*-isopropylmethacrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide) networks in water/ethanol mixtures. Cononsolvency effect. *Polymer Bulletin* 2007, 58, 191-199.
- Ali, M.S.; Pandit, V.; Jain, M.; Dhar, K.L. Mucoadhesive microparticulate drug delivery system of curcumin against *Helicobacter pylori* infection: Design, development and optimization. *Journal of advanced pharmaceutical technology and research* 2014, 5(1), 48-56.
- Al-qudah, Y.H.F.; Mahmoud, G.A.; Khalek, M.A.A. Radiation crosslinked poly(vinyl alcohol)/acrylic acid copolymer for removal of heavy metal ions from aqueous solutions. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 2014, 7, 135-145.
- Anand, P.; Kunnumakkara, A.B.; Newman, R.A.; Aggarwal, B.B. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics* 2007, 4(6), 807-818.
- Angelini, G.; Pasc, A.; Gasbarri, C. Curcumin in silver nanoparticles aqueous solution: Kinetics of keto-enol tautomerism and effects on AgNPs. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2020, 603, 125235.
- Araújo, P.H.H.; Sayer, C.; Giudici, R.; Poco, J.G.R. Techniques for reducing residual monomer content in polymers: A review. *Polymer Engineering & Science* 2002, 42, 1442-1468.
- Aseyev, V.O.; Tenhu, H.; Winnik, F.M. Temperature dependence of the colloidal stability of neutral amphiphilic polymers in water. *Advances in Polymer Science* 2006, 196, 1-85.
- Ashraf, S.; Park, H.K.; Park, H.; Lee, S.H. Snapshot of phase transition in thermoresponsive hydrogel PNIPAM: Role in drug delivery and tissue engineering. *Macromolecular Research* 2016, 24(4), 297-304.

- Asouri, M.; Ataee, R.; Ahmadi, A.A.; Amini, A.; Moshaei, M.R. Antioxidant and free radical scavenging activities of curcumin. *Asian Journal of Chemistry* 2013, 25(13), 7593-7595.
- Augé, A.; Zhao, Y. What determines the volume transition temperature of UCST acrylamide–acrylonitrile hydrogels? *RSC Advances* 2016, 6(74), 70616-23.
- Ayar, Z.; Shafieian, M.; Mahmoodi, N.; Sabzevari, O.; Hassannejad, Z. A rechargeable drug delivery system based on pNIPAM hydrogel for the local release of curcumin. *Journal of Applied Polymer Science* 2021, 138, 51167.
- Ayman, A.D. The residual monomer content and mechanical properties of CAD\CAM resins used in the fabrication of complete dentures as compared to heat cured resins. *Electron Physician* 2017, 9, 4766-4722.
- Babaei, F.; Nassiri-Asl, M.; Hosseinzadeh, H. Curcumin (a constituent of turmeric): New treatment option against COVID-19. *Food Science & Nutrition* 2020, 8(10), 5215-5227.
- Bajpai, S.K. Swelling–deswelling behavior of poly(acrylamide-co-maleic acid) hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science* 2001, 80, 2782–2789.
- Bajpai, K.; Shukla, S.K.; Bhanu, S.; Kankane, S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science* 2008, 33, 1088-1118.
- Balasubramanian, A.; Pilankatta, R.; Teramoto, T.; Sajith, A.M.; Nwulia, E.; Kulkarni, A.; Padmanabhan, R. Inhibition of dengue virus by curcuminoids. *Antiviral Research* 2019, 162, 71-78.
- Barclay, L.R.C.; Vinqvist, M.R.; Mukai, K.; Goto, H.; Hashimoto, Y.; Tokunaga, A.; Uno, H. On the antioxidant mechanism of curcumin: classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Organic Letters* 2000, 2(18), 2841-2843.
- Bashir, S.; Hina, M.; Iqbal, J.; Rajpar, A.H.; Mujtaba, M.A.; Alghamdi, N.A.; Wageh, S.; Ramesh, K.; Ramesh, S. *Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications*. *Polymers* 2020, 12(11), 2702.
- Baspinar, Y.; Üstündas, M.; Bayraktar, O.; Sezgin, C. Curcumin and piperine loaded zein-chitosan nanoparticles: Development and in-vitro characterisation. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2018, 26(3), 323-334.
- Bayomi, S.M.; El-Kashef, H.A.; El-Ashmawy, M.B.; Nasr, M.N.; El-Sherbeny, M.A.; Badria, F. A.; Abdel-Aziz, N.I. Synthesis and biological evaluation of new curcumin derivatives as antioxidant and antitumor agents. *Medicinal Chemistry Research* 2013, 22, 1147-1162.
- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (Frap) as a Measure of “Antioxidant Power”: The Frap Assay. *Analytical Biochemistru* 1996, 239, 70-76.

- Berndt, I.; Pedersen, J.S.; Lindner, P.; Richtering, W. Structure of Doubly Temperature Sensitive Core-Shell Microgels Based on Poly-*N*-Isopropylacrylamide and Poly-*N*-Isopropylmethacrylamide. *Progress in Colloid and Polymer Science* 2006, 133, 35-40.
- Berndt, I.; Richtering, W. Doubly Temperature Sensitive Core-Shell Microgels. *Macromolecules* 2003, 36, 8780-8785.
- Berndt, I.; Pedersen, J.S.; Lindner, P.; Richtering, W. Influence of Shell Thickness and Cross-Link Density on the Structure of Temperature-Sensitive Poly-*N*-Isopropylacrylamide-Poly-*N*-Isopropylmethacrylamide Core-Shell Microgels Investigated by Small-Angle Neutron Scattering. *Langmuir* 2006, 22, 459-468.
- Bhullar, K.S.; Jha, A.; Youssef, D.; Rupasinghe, H.P.V. Curcumin and Its Carbocyclic Analogs: Structure-Activity in Relation to Antioxidant and Selected Biological Properties. *Molecules* 2013, 18(5), 5389-5404.
- Budhwar, V. Cyclodextrin complexes: An approach to improve the physicochemical properties of drugs and applications of cyclodextrin complexes. *Asian Journal of Pharmaceutics* 2018, 12(2), S394-S409.
- Buenger, D.; Topuz, F.; Groll, J. Hydrogels in sensing applications. *Progress in Polymer Science* 2012, 37(12), 1678-1719.
- Caló, E.; Khutoryanskiy, V.V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal* 2015, 65, 252–267.
- Cai, S.; Suo, Z. Mechanics and chemical thermodynamics of phase transition in temperature-sensitive hydrogels. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 2011, 59(11), 2259-78.
- Cai, W.; Anderson, E.C.; Gupta, R.B. Separation of Lignin from Aqueous Mixtures by Ionic and Nonionic Temperature-Sensitive Hydrogels. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 2001, 40(10), 2283-2288.
- Carvalho, F.C.; Calixto, G.; Hatakeyama, I.N.; Luz, G.M.; Gremião, M.P.D.; Chorilli, M. Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2013, 39(11), 1750-1757.
- Castaño, P.R.; Parween, S.; Pandey, A.V. Bioactivity of curcumin on the cytochrome P450 enzymes of the steroidogenic pathway. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, 20(18), 4606.
- Celebioglu, A.; Uyar, T. Fast-dissolving antioxidant curcumin/cyclodextrin inclusion complex electrospun nanofibrous webs. *Food Chemistry* 2020, 317, 126397.

- Cevher, E.; Taha, M.A.M.; Orlu, M.; Araman, A. Evaluation of mechanical and mucoadhesive properties of clomiphene citrate gel formulations containing carbomers and their thiolated derivatives. *Drug Delivery* 2008, 15(1), 57-67.
- Chai, Y.S.; Chen, Y.Q.; Lin, S.H.; Xie, K.; Wang, C.J.; Yang, Y.Z.; Xu F. Curcumin regulates the differentiation of naïve CD4<sup>+</sup>T cells and activates IL-10 immune modulation against acute lung injury in mice. *Biomedicine Pharmacotherapy* 2020, 125, 109946.
- Cheng, Y.H.; Ko, Y.C.; Chang, Y.F.; Huang, S.H.; Liu, C.J.L. Thermosensitive chitosan-gelatin-based hydrogel containing curcumin-loaded nanoparticles and latanoprost as a dual-drug delivery system for glaucoma treatment. *Experimental Eye Research* 2019, 179, 179-187.
- Chen, S.; Wu, J.; Tang, Q.; Xu, C.; Huang, Y.; Huang, D.; Wang, S. Nano-micelles based on hydroxyethyl starch-curcumin conjugates for improved stability, antioxidant and anticancer activity of curcumin. *Carbohydrate Polymers* 2020, 228, 115398.
- Chen, J.; Qin, X.; Zhong, S.; Chen, S.; Su, W.; Liu, Y. Characterization of curcumin/cyclodextrin polymer inclusion complex and investigation on its antioxidant and antiproliferative activities. *Molecules* 2018, 23(5), 1179.
- Choi, S.S.; Kim, Y.K. Analysis of Residual Monomers in Poly(acrylonitrile-co-butadiene-co-styrene). *Macromolecular Research* 2012, 20, 585-589.
- Chytry, V.; Ulbrich, K. Conjugate of Doxorubicin with a Thermosensitive Polymer Drug Carrier. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 2001, 16, 427-440.
- Cid-Samamed, A.; Rakmai, J.; Mejuto, J.C.; Simal-Gandara, J.; Astray, G. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry* 2022, 384, 132467.
- Cipriano, B.H.; Banik, S.J.; Sharma, R.; Rumore, D.; Hwang, W.; Briber, R.M.; Raghavan, S.R. Superabsorbent Hydrogels That Are Robust and Highly Stretchable. *Macromolecules* 2014, 47(13), 4445-4452.
- Clarke, K.C.; Lyon, L.A. Modulation of the Deswelling Temperature of Thermoresponsive Microgel Films. *Langmuir* 2013, 29, 12852-12857.
- Clarke, K.C.; Dunham, S.N.; Lyon, L.A. Core/Shell Microgels Decouple the pH and Temperature Responsivities of Microgel Films. *Chemistry of Materials* 2015, 27(4), 1391-1396.
- Costa, P.; Lobo, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001, 13(2), 123-133.

- Constantin, M.; Bucatariu, S.; Harabagiu, V.; Popescu, I.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G. Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) pH/thermo-responsive porous hydrogels as self-regulated drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2014, 62, 86-95.
- Constantin, M.; Cristea, M.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G. Lower critical solution temperature versus volume phase transition temperature in thermoresponsive drug delivery systems. *Express Polymer Letters* 2011, 5(10), 839-48.
- Creteanu, A.; Pamfil, D.; Vasile, C.; Tantar, G.; Ghiciuc, C.M.; Ochiuz, L.; Macsim, A.M. Study on the role of the inclusion complexes with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin for oral administration of amiodarone. *International Journal of Polymer Science* 2019, 2019, 1-23.
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, Approved standard 9th ed, CLSI document M07-A9, Wayne, PA, CLSI, 2012.
- Cuomo, J.; Appendino, G.; Dern, A.S.; Schneider, E.; McKinnon, T.P.; Brown, M.J.; Togni, S.; Dixon, B.M. Comparative absorption of a standardized curcuminoid mixture and its lecithin formulation. *Journal of Natural Products* 2011, 74(4), 664-669.
- Dahabra, L.; Broadberry, G.; Le Gresley, A.; Najlah, M.; Khoder, M. Sunscreens containing cyclodextrin inclusion complexes for enhanced efficiency: A strategy for skin cancer prevention. *Molecules* 2021, 26(6), 1698.
- D’Aria, F.; Pagano, B.; Giancola, C. Thermodynamic properties of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin/guest interaction: a survey of recent studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2022, 147(8), 4889-4897.
- da Silva Júnior, W.F.; de Oliveira Pinheiro, J.G.; Moreira, C.D.; de Souza, F.J.; de Lima, Á.A. Alternative technologies to improve solubility and stability of poorly water-soluble drugs. In: *Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics*. Elsevier 2017, 281-305.
- Dash, S.; Murthy, P.N.; Nath, L.; Chowdhury, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 2010, 67(3), 217-223.
- Del Valle, E.M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry* 2004, 39(9), 1033-1046.
- Ding, Z.; Zheng, X.; Li, S.; Cao, X. Immobilization of cellulase onto a recyclable thermoresponsive polymer as bioconjugate. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2016, 128, 39-45.

- Devasagayam, T.P.A.; Tilak, J.C.; Bloor, K.K.; Sane, K.S.; Ghaskadbi, S.S.; Lele, R.D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 2004, 52, 794-804.
- Dinić, A.; Nikolić, V.; Nikolić, Lj.; Ilić-Stojanović, S.; Najman, S.; Urošević, M.; Gajić, I. Modified Sulfanilamide Release from Intelligent Poly(*N*-isopropylacrylamide) Hydrogels. *Pharmaceutics* 2023, 15, 1749.
- Djokpe, E.; Vogt, W. *N*-Isopropylacrylamide and *N*-Isopropylmethacrylamide: Cloud Points of Mixtures and Copolymers. *Macromolecular Chemistry and Physics* 2001, 202, 750-757.
- Đorđević, S.; Isailović, T.; Cekić, N.; Vuleta, G.; Savić, S. Parenteralne nanoemulzije diazepama- fizičko-hemijska karakterizacija i *in vitro* ispitivanje brzine oslobađanja. *Arhiv za Farmaciju*, 2016, 66(1), 24-41.
- Dourado, D.; Freire, D.T.; Pereira, D.T.; Amaral-Machado, L.; Alencar, É.N.; de Barros, A.L.B.; Egito, E.S.T. Will curcumin nanosystems be the next promising antiviral alternatives in COVID-19 treatment trials? *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2021, 111578.
- Duracher, D.; Elaïssari, A.; Pichot, C. Characterization of cross-linked poly(*N*-isopropylmethacrylamide) microgel latexes. *Colloid and Polymer Science* 1999, 277, 905-913.
- Dybal, J.; Trchová, M.; Schmidt, P. The role of water in structural changes of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylmethacrylamide) studied by FTIR, Raman spectroscopy and quantum chemical calculations. *Vibrational Spectroscopy* 2009, 51, 44-51.
- Ebara, M.; Kotsuchibashi, Y.; Narain, R.; Idota, N.; Kim, Y.J.; Hoffman, J.M.; Uto, K.; Aoyagi, T. *Smart Biomaterials*. Springer, Japan, 2014.
- Elmas, A.; Akyüz, G.; Bergal, A.; Andaç, M.; Andac, O. Mathematical modelling of drug release. *Research on Engineering Structures & Materials* 2020, 6(4), 327-350.
- El-Saadony, M.T.; Zabermaawi, N.M.; Zabermaawi, N.M.; Burollus, M.A.; Shafi, M.E.; Alagawany, M.; Yehia, N.; Askar, A.M.; Alsafy, S.A.; Noreldin, A.E.; Khafaga, A.F.; Dhama, K.; Elnesr, S.S.; Elwan, H.A.M.; Di Cerbo, A.; El-Tarabily, K.A.; Abd El-Hack, M.E. Nutritional aspects and health benefits of bioactive plant compounds against infectious diseases: a review. *Food Reviews International* 2023, 39(4), 2138-2160.
- Ergashev, S.U. Important Properties of Carbomer. *International Journal of Human Computing Studies* 2021, 3(7), 34-35.
- Fundueanu, G.; Constantin, M.; Bucatariu, S.; Ascenzi, P. Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-*N*-isopropylmethacrylamide) Thermo-Responsive Microgels as Self-Regulated Drug Delivery System. *Macromolecular Chemistry and Physics* 2016, 217, 2525-2533.

- Farid, R.M. A focus on curcumin local application in oral diseases management: Mini review. *IOSR Journal Of Pharmacy* 2016, 6, 30-40.
- Ferreira, V.H.; Nazli, A.; Dizzell, S.E.; Mueller, K.; Kaushic, C. The anti-inflammatory activity of curcumin protects the genital mucosal epithelial barrier from disruption and blocks replication of HIV-1 and HSV-2. *PloS One* 2015, 10(4), e0124903.
- Firestone, B.A.; Siegel, R.A. Kinetics and mechanisms of water sorption in hydrophobic, ionizable copolymer gels. *Journal of Applied Polymer Science* 1991, 43, 901-914.
- Fossa Shirata, M.M.; Campos, P.M. Influence of UV filters on the texture profile and efficacy of a cosmetic formulation. *International Journal of Cosmetic Science* 2017, 39(6), 622–8.
- Fujishige, S.; Kubota, K.; Ando, I. Phase Transition of Aqueous Solutions of Poly(*N*-isopropylacrylamide) and Poly(*N*-isopropylmethacrylamide). *The Journal of Physical Chemistry* 1989, 93(8), 3311-3313.
- Garba, Z.N.; Rahim, A.A.; Hamza, S.A. Potential of *Borassus aethiopum* shells as precursor for activated carbon preparation by physico-chemical activation; optimization, equilibrium and kinetic studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2014, 2(3), 1423–1433.
- Gajić, I.; Ilić-Stojanović, S.; Dinić, A.; Zdravković, A.; Stanojević, L.; Nikolić, V.; Nikolić, L. Modified Biochanin A Release from Dual pH- i Thermo-Responsive Copolymer Hydrogels. *Polymers* 2021, 13, 426.
- Gandhi, A.; Paul, A.; Sen, S.O.; Sen, K.K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015, 10(2), 99-107.
- Ganji, F.; Vasheghani-Farahani, S.; Vasheghani-Farahani E. Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review. *Iranian Polymer Journal* 2010, 19, 375-398.
- Gawlitza, K.; Wu, C.; Georgieva, R.; Wang, D.; Ansorge-Schumacherb, M. B.; von Klitzing, R. Immobilization of lipase B within micron-sized poly-*N*-isopropylacrylamide hydrogel particles by solvent exchange. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2012, 14, 9594-9600.
- Gemeinhart, R.A.; Guo, C. Fast Swelling Hydrogel Systems. In: *Reflexive polymers and hydrogels: understanding and designing fast responsive polymeric systems*. CRC Press 2004, 245-257.
- Gera, M.; Sharma, N.; Ghosh, M.; Huynh, D.L.; Lee, S.J.; Min, T.; Kwon, T.; Jeong, D.K. Nanoformulations of curcumin: An emerging paradigm for improved remedial application. *Oncotarget* 2017, 8(39), 66680-66698.

- Girardon, M.; Parant, S.; Monari, A.; Dehez, F.; Chipot, C.; Rogalska, E.; Pasc, A. Triggering tautomerization of curcumin by confinement into liposomes. *ChemPhotoChem* 2019, 3(10), 1034-1041.
- Goel, A.; Kunnumakkara, A.B.; Aggarwal, B.B. Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochemical Pharmacology* 2008, 75(4), 787-809.
- Goel, A.; Boland, C.R.; Chauhan, D.P. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by dietary curcumin in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Letters* 2001, 172(2), 111-118.
- Gopi, S.; Ac, K.V.; Varma, K.; Jude, S.; Amalraj, A.; Arundhathy, C.; George, R.; Sreeraj, T.; Divya, C.; Kunnumakkara, A.B. Comparative Oral Absorption of Curcumin in a Natural Turmeric Matrix with Two Other Curcumin Formulations: An Open-label Parallel-arm Study. *Phytotherapy Research* 2017, 31, 1883–1891.
- Gordon, O.N.; Luis, P.B.; Sintim, H.O.; Schneider, C. Unraveling curcumin degradation autoxidation proceeds through spiroepoxide and vinyl ether intermediates en route to the main bicyclopentadione. *Journal of Biological Chemistry* 2015, 290(8), 4817-4828.
- Graham, S.; Marina, P.F.; Blencowe, A. Thermoresponsive polysaccharides and their thermoreversible physical hydrogel networks. *Carbohydrate polymers* 2019, 207, 143-159.
- Grassi, G.; Farra, R.; Caliceti, P.; Guarnieri, G.; Salmaso, S.; Carenza, M.; Grassi, M. Hydrogels TS. Potential Therapeutic Applications. *American Journal of Drug Delivery* 2005, 3(4), 239-251.
- Greil, R.; Greil-Ressler, S.; Weiss, L.; Schönlieb, C.; Magnes, T.; Radl, B.; Bolger, G.T.; Vcelar, B.; Sordillo, P.P. A phase 1 dose escalation study on the safety, tolerability and activity of liposomal curcumin (Lipocure™) in patients with locally advanced or metastatic cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2018, 82, 695–706.
- Gunathilake, T.M.S.U.; Ching, Y.C.; Chuah, C.H.; Ilias, H.A.; Ching, K.Y.; Singh, R.; Nai-Shang, L. Influence of a nonionic surfactant on curcumin delivery of nanocellulose reinforced chitosan hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018, 118, 1055-1064.
- Gupta, N.K.; Nahata, A.; Dixit, V.K. Development of a spectrofluorimetric method for the determination of curcumin. *Asian Journal of Traditional* 2010, 5(1), 12-18.
- Gupta, S.C.; Patchva, S.; Koh, W.; Aggarwal, B.B. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2012, 39(3), 283-299.



- Gupta, S.C.; Prasad, S.; Kim, J.H.; Patchva, S.; Webb, L.J.; Priyadarsini, I.K.; Aggarwal, B.B. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural Product Reports* 2011, 28(12), 1937-1955.
- Gupta, A.; Costa, A.P.; Xu, X.; Lee, S.L.; Cruz, C.N.; Bao, Q.; Burgess, D.J. Formulation and characterization of curcumin loaded polymeric micelles produced via continuous processing. *International Journal of Pharmaceutics* 2020, 583, 119340.
- Habaue, S.; Isobe, Y.; Okamoto, Y. Stereocontrolled radical polymerization of acrylamides and methacrylamides using Lewis acids. *Tetrahedron* 2002, 58, 8205-8209.
- Hafizi, A.; Ahmadpour, A.; Koolivand-Salooki, M.; Heravi, M.M.; Bamoharram, F.F. Comparison of RSM and ANN for the investigation of linear alkylbenzene synthesis over  $H_{14}[NaP_5W_{30}O_{110}]/SiO_2$  catalyst. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2013, 19(6), 1981–1989.
- Haley, R.M.; Gottardi, R.; Langer, R.; Mitchell, M.J. Cyclodextrins in drug delivery: applications in gene and combination therapy. *Drug Delivery and Translational Research* 2020, 10(3), 661-677.
- Hanyková, L.; Spěváček, J.; Radecki, M.; Zhigunov, A.; Šťastná, J.; Valentová, H.; Sedláková, Z. Structures and interactions in collapsed hydrogels of thermoresponsive interpenetrating polymer networks. *Colloid and Polymer Science* 2015, 293, 709-720.
- Hansen, C.M. The significance of the surface condition in solutions to the diffusion equation: Explaining “anomalous” sigmoidal, Case II, and Super Case II absorption behavior. *European Polymer Journal* 2010, 46, 651–662.
- Haryuna, T.S.; Munir, D.; Maria, A.; Bashiruddin, J. The Antioxidant Effect of Curcumin on Cochlear Fibroblasts in Rat Models of Diabetes Mellitus. *Iranian Journal of Otorhinolaryngology* 2017, 29(93), 197-202.
- Hathaway, H.; Alves, D.R.; Bean, J.; Esteban, P.P.; Ouadi, K.; Sutton, J.M.; Jenkins, A.T.A. Poly(*N*-isopropylacrylamide-co-allylamine), (PNIPAM-co-ALA) nanospheres for the thermally triggered release of Bacteriophage K. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2015, 96, 437-441.
- Heger, M.; van Golen, R.F.; Broekgaarden, M.; Michel, M.C. The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer. *Pharmacological Reviews* 2014, 66(1), 222-307.
- Henriques, M.C.; Faustino, M.A.F.; Braga S.S. Curcumin Innovative Delivery Forms: Paving the ‘Yellow Brick Road’ of Antitumoral Phytotherapy. *Applied Sciences* 2020, 10(24), 8990.

- Heskins, M.; Guillet, J.E. Solution Properties of Poly(*N*-isopropylacrylamide). *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* 1968, 2(8), 1441-1455.
- Hewlings, S.J.; Kalman, D.S. Curcumin: a review of its effects on human health. *Foods* 2017, 6(10), 92.
- Higuchi, T.; Connors, K. Phase solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* 1965, 7, 117-212.
- Ho, T.C.; Chang, C.C.; Chan, H.P.; Chung, T.W.; Shu, C.W.; Chuang, K.P.; Duh, T.H.; Yang, M.H.; Tyan, Y.C. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules* 2022, 27(9), 2902.
- Hoffman, A.S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002, 43, 3-12.
- Hoffman, A.S. Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2013, 65, 10-16.
- Hong, J.; Bose, M.; Ju, J.; Ryu, J.H.; Chen, X.; Sang, S.; Yang, C.S. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related  $\beta$ -diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* 2004, 25(9), 1671-1679.
- Hsiue, G.H.; Hsu, S.H.; Yang, C.C.; Lee, S.H.; Yang, I.K. Preparation of controlled release ophthalmic drops, for glaucoma therapy using thermosensitive poly-*N*-isopropylacrylamide. *Biomaterials* 2002, 23(2), 457-462.
- Hu, W.; Wang, Z.; Xiao, Y.; Zhang, S.; Wang, J. Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels. *Biomaterials Science* 2019, 7(3), 843-855.
- Hu, X.; Tong, Z.; Lyon, A. One-Pot Synthesis of Microcapsules with Nanoscale Inclusions, *Macromolecular Rapid Communications* 2011, 32, 1461-1466.
- Hu, J.; Liu, S. Responsive Polymers for Detection and Sensing Applications: Current Status and Future Developments. *Macromolecules* 2010, 43, 8315-8330.
- Hurler, J.; Engesland, A.; Poorahmary Kermany, B.; Škalko- Basnet, N.. Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. *Journal of applied polymer science* 2012, 125(1), 180-188.
- Iacovino, R.; Caso, J.V.; Di Donato, C.; Malgieri, G.; Palmieri, M.; Russo, L.; Isernia, C. Cyclodextrins as complexing agents: preparation and applications. *Current Organic Chemistry* 2017, 21(2), 162-176.

- Islam, M.T.; Rodriguez-Hornedo, N.; Ciotti, S.; Ackermann, C. Rheological characterization of topical carbomer gels neutralized to different pH. *Pharmaceutical research* 2004, 21(7), 1192-9.
- Ismail, E.H.; Sabry, D.Y.; Mahdy, H.; Khalil, M.M.H. Synthesis and Characterization of some Ternary Metal Complexes of Curcumin with 1, 10-phenanthroline and their Anticancer Applications. *Journal of Scientific Research* 2014, 6(3), 509-519.
- Jagetia, G.C.; Rajanikant, G.K. Curcumin stimulates the antioxidant mechanisms in mouse skin exposed to fractionated  $\gamma$ -irradiation. *Antioxidants* 2015, 4(1), 25-41.
- Jáfar, M.H.; Syazni, N.N.; Kamal, N.M.; Hui, B.Y.; Kamaruzzaman, M.F.; Nadhirah, N.; Zain, M.; Yahaya, N.; Raoov, M. Inclusion of Curcumin in  $\beta$ -cyclodextrins as Potential Drug Delivery System: Preparation, Characterization and Its Preliminary Cytotoxicity Approaches. *Sains Malaysiana* 2018, 47(5), 977–989.
- Jäger, R.; Lowery, R.P.; Calvanese, A.V.; Joy, J.M.; Purpura, M.; Wilson, J.M. Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutrition journal* 2014, 13(1), 1-8.
- Jang, J.W.; Park, J.H.; Kim, I.J.; Sim, J.H.; Yu, S.G.; Lee, D.J.; Kim, H.D. Preparation and characterization of thermoresponsive poly (*N*-isopropylacrylamide-*co*-*N*-isopropylmethacrylamide) hydrogel materials for smart windows. *Journal of Applied Polymer Science* 2021, 138(6), 49788.
- Jansook, P.; Ogawa, N.; Loftsson, T. Cyclodextrins: Structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International journal of pharmaceutics* 2018, 535(1-2), 272-284.
- Jambhekar, S.S.; Breen, P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: Structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. *Drug discovery today* 2016, 21(2), 356-362.
- Jamwal, R. Bioavailable curcumin formulations: A review of pharmacokinetic studies in healthy volunteers. *Journal of integrative medicine* 2018, 16(6), 367-374.
- Jung, S.C.; Bae, Y.C. The effects of interaction energy on the volume phase transition of *N*-isopropylacrylamide-*co*-*N*-isopropylmethacrylamide nano-sized gel particles: Applicability of molecular simulation technique. *Polymer* 2009, 50, 4957-4963.
- Kapor, A.; Nikolić, V.; Nikolić, L.; Stanković, M.; Cakić, M.; Stanojević, L.; Ilić, D. Inclusion complexes of amlodipine besylate and cyclodextrins. *Open Chemistry* 2010, 8(4), 834-841.

- Karavasili, C.; Andreadis, D.A.; Katsamenis, O.L.; Panteris, E.; Anastasiadou, P.; Kakazanis, Z.; Zoumpourlis, V.; Markopoulou, C.K.; Koutsopoulos, S.; Vizirianakis, I.S.; Fatouros, D.G. Synergistic antitumor potency of a self-assembling peptide hydrogel for the local co-delivery of doxorubicin and curcumin in the treatment of head and neck cancer. *Molecular Pharmaceutics* 2019, 16(6), 2326-2341.
- Kasapoglu-Calik, M.; Ozdemir, M. Synthesis and controlled release of curcumin- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex from nanocomposite poly(*N*-isopropylacrylamide/sodium alginate) hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science* 2019, 136(21), 47544.
- Kawano, S.I.; Inohana, Y.; Hashi, Y.; Lin, J.M. Analysis of keto-enol tautomers of curcumin by liquid chromatography/mass spectrometry. *Chinese Chemical Letters* 2013, 24(8), 685-687.
- Keerl, M.; Pedersen, J.S.; Richtering, W. Temperature Sensitive Copolymer Microgels with Nanophase Separated Structure. *Journal American Chemical Society* 2009, 131, 3093-3097.
- Kemmere, M.; van Schilt, M.; Cleven, M.; van Herk, A.; Keurentjes, J. Reduction of residual monomer in latex products by enhanced polymerization and extraction in supercritical carbon dioxide. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2002, 41, 2617-2622.
- Khan, M.S.A.; Ahmad, I. Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. In *New look to phytomedicine*. Academic Press 2019, 3-13.
- Khayet, M.; Seman, M.N.A.; Hilal, N. Response surface modeling and optimization of composite nanofiltration modified membranes. *Journal of Membrane Science* 2010, 349(1-2), 113-122.
- Khuri, A.I.; Mukhopadhyay, S. Response surface methodology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* 2010, 2(2), 128-149.
- Kim, L.; Kim, J.Y. Chondroprotective effect of curcumin and lecithin complex in human chondrocytes stimulated by IL-1 $\beta$  via an anti-inflammatory mechanism. *Food Science and Biotechnology* 2019, 28(2), 547-553.
- Kim, J.; Park, S.; Jeon, B.S.; Jang, W.S.; Lee, S.J.; Son, Y., Lee, S.S. Therapeutic effect of topical application of curcumin during treatment of radiation burns in a mini-pig model. *Journal of Veterinary Science* 2016, 17(4), 435.
- Kirsh, Y.E.; Yanul, N.A.; Popkov, Y.M. Temperature behavior of thermo-responsive poly-*N*-vinylcaprolactam and poly-*N*-isopropylmethacrylamide in aqueous solutions involving organic solutes. *European Polymer Journal* 2002, 38(2), 403-406.
- Klouda, L. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications A seven-year update. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2015, 97, 338-349.
- Klouda, L.; Mikos, A.G. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008, 68, 34-45.

- Koetting, M.C.; Peters, J.T.; Steichen, S.D.; Peppas, N.A. Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications. *Materials Science and Engineering R* 2015, 93, 1-49.
- Kokufuta, M.K.; Sato, S.; Kokufuta, E. LCST behavior of copolymers of *N*-isopropylacrylamide and *N*-isopropylmethacrylamide in water. *Colloid and Polymer Science* 2012, 290(16), 1671-1681.
- Kolev, T.M.; Velcheva, E.A.; Stamboliyska, B.A.; Spitteller, M. DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. *International Journal of Quantum Chemistry* 2005, 102(6), 1069-1079.
- Kubota, K.; Hamano, K.; Kuwahara, N.; Fujishige, S.; Ando, I. Characterization of poly(*N*-isopropylmethacrylamide) in water. *Polymer Journal* 1990, 22, 1051-1057.
- Kumara, M. Viscoelastic properties and rheological characterization of carbomers. *International Journal of Engineering Research & Technology* 2015, 1, 17-30.
- Kumavat, S.D.; Chaudhari, Y.S.; Borole, P.; Mishra, P.; Shenghani, K.; Duvvuri, P. Degradation studies of curcumin. *International Journal of Pharmaceutical Review and Research* 2013, 3(2), 50-55.
- Kunnumakkara, A.B.; Bordoloi, D.; Padmavathi, G.; Monisha, J.; Roy, N.K.; Prasad, S.; Aggarwal, B.B. Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *British Journal of Pharmacology* 2017, 174(11), 1325-1348.
- Kundu, S.; Nithiyantham, U. In situ formation of curcumin stabilized shape-selective Ag nanostructures in aqueous solution and their pronounced SERS activity. *The Royal Society of Chemistry Advances* 2013, 3(47), 25278-25290.
- Kurečić, M.; Sfiligoj-Smole, M.; Stana-Kleinschek, K. Uv polymerization of poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogel. *Materials and Technology* 2012, 46(1), 87-91.
- Lanzalaco, S.; Armelin, E. Poly (*N*-isopropylacrylamide) and copolymers: A review on recent progresses in biomedical applications. *Gels* 2017, 3(4), 36.
- Lee, S.C.; Kwon, I.K.; Park, K. Hydrogels for delivery of bioactive agents: A historical perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2013, 65, 17-20.
- Lee, S.C.; Chang, J.Y. Thermosensitive Block Copolymers Consisting of Poly(*N*-isopropylacrylamide) and Star Shape Oligo(ethylene oxide). *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2009, 30(7), 1521-1525.
- Li, J.; Mooney, D.J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nature Reviews Materials* 2016, 1(12), 1-17.

- Li, N.; Wang, N.; Wu, T.; Qiu, C.; Wang, X.; Jiang, S.; Wang, T. Preparation of curcumin-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex by cosolvency-lyophilization procedure to enhance oral bioavailability of the drug. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2018, 44(12), 1966-1974.
- Liu, L.; Zeng, J.; Zhao, X.; Tian, K.; Liu, P. Independent temperature and pH dual-responsive PMAA/PNIPAM microgels as drug delivery system: Effect of swelling behavior of the core and shell materials in fabrication process. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2017, 526, 48-55.
- Liu, D.; Schwimer, J.; Liu, Z.; Woltering, E.A.; Greenway, F.L. Antiangiogenic effect of curcumin in pure versus in extract forms. *Pharmaceutical Biology* 2008, 46(10-11), 677-682.
- Liu, W.; Zhai, Y.; Heng, X.; Che, F.Y.; Chen, W.; Sun, D.; Zhai, G. Oral bioavailability of curcumin: problems and advancements. *Journal of Drug Targeting* 2016, 24(8), 694-702.
- Liu, Y.; Huang, P.; Hou, X.; Yan, F.; Jiang, Z.; Shi, J.; Xie, X.; Shen, J.; Fan, Q.; Wang, Z.; Feng, N. Hybrid curcumin-phospholipid complex-near-infrared dye oral drug delivery system to inhibit lung metastasis of breast cancer. *International Journal of Nanomedicine* 2019, 14, 3311-3330.
- Liu, Z.; Ying, Y. The inhibitory effect of curcumin on virus-induced cytokine storm and its potential use in the associated severe pneumonia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 2020, 8, 479.
- Liu, K.; Huang, R.L.; Zha, X.Q.; Li, Q.M.; Pan, L.H.; Luo, J.P. Encapsulation and sustained release of curcumin by a composite hydrogel of lotus root amylopectin and chitosan. *Carbohydrate Polymers* 2020, 232, 115810.
- Li, H.; Zhong, C.; Wang, Q.; Chen, W.; Yuan, Y. Curcumin is an APE1 redox inhibitor and exhibits an antiviral activity against KSHV replication and pathogenesis. *Antiviral Research* 2019, 167, 98-103.
- Loftsson, T.; Brewster, M.E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1996, 85(10), 1017-1025.
- Loftsson, T.; Brewster, M.E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: effects on drug permeation through biological membranes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011, 63(9), 1119-1135.
- Loftsson, T. Cyclodextrins and the biopharmaceutics classification system of drugs. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 2002, 44, 63-67.

- Loftsson, T.; Jarho, P.; Másson, M.; Järvinen, T. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* 2005, 2(2), 335-351.
- Loftsson, T.; Moya-Ortega, M.D.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. Pharmacokinetics of cyclodextrins and drugs after oral and parenteral administration of drug/cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2016, 68(5), 544-555.
- Lundstedt, T.; Seifert, E.; Abramo, L.; Thelin, B.; Nyström, Å.; Pettersen, J.; Bergman, R. Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 1998, 42(1-2), 3–40.
- Maazaoui, R.; Abderrahim, R. Applications of cyclodextrins: formation of inclusion complexes and their characterization. *International Journal of Advanced Research* 2015, 3(2), 1030.
- Manolova, Y.; Deneva, V.; Antonov, L.; Drakalska, E.; Momkova, D.; Lambov, N. The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2014, 132, 815-820.
- Manek, E.; Domján, A.; Madarász, J.; László, K. Interactions in aromatic probe molecule loaded poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels and implications for drug delivery. *European Polymer Journal* 2015, 68, 657-664.
- Manikandan, R.; Thiagarajan, R.; Beulaja, S.; Sudhandiran, G.; Arumugam, M. Curcumin protects against hepatic and renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase during selenium-induced toxicity in Wistar rats. *Microscopy Research and Technique* 2010, 73(6), 631-637.
- Martinović, M.; Stojanović, N.; Nešić, I. Textural and sensory characterization of carbomeric gels with panthenol. *Acta Facultatis Medicae Naissensis* 2022, 39(2), 232-243.
- Matanović, M.R.; Kristl, J.; Grabnar, P.A. Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics* 2014, 472, 262-275.
- Mathew, D.; Hsu, W.L. Antiviral potential of curcumin. *Journal of Functional Foods* 2018, 40, 692-699.
- Mattos de Silva, M.R.; Santos, E.P.; Barros, R.C.S.A.; Garcia, S.; Albuquerque, M.G.; Oliveira, J.S.C.; Sader, M.S. The development of a new complexation technique of hydrocortisone acetate with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin: Preparation and characterization. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research* 2018, 7(1), 1-5.
- Matsumoto, A.; Ikeda, S.; Harada, A.; Kataoka, K. Glucose-Responsive Polymer Bearing a Novel Phenylborate Derivative as a Glucose-Sensing Moiety Operating at Physiological pH Conditions. *Biomacromolecules* 2003, 4, 1410-1416.

- Menon, V.P.; Sudheer, A.R. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2007, 595, 105-125.
- Meshkibaf, M.H.; Maleknia, M.; Noroozi, S. Effect of curcumin on gene expression and protein level of methionine sulfoxide reductase A (MSRA), SOD, CAT and GPx in Freund's adjuvant inflammation-induced male rats. *Journal of Inflammation Research* 2019, 12, 241-249.
- Milašinović, N.; Milosavljević, N.; Filipovic, J.; Knežević Jugović, Z.; Kalagasidis Krušić, M. Synthesis, characterization and application of poly(*N*-isopropylacrylamide-co-itaconic acid) hydrogels as supports for lipase immobilization. *Reactive and Functional Polymers* 2010, 70, 807-814.
- Montgomery, D.C. *Design and analysis of experiments*. 8<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey, 2012.
- Mounce, B.C.; Cesaro, T.; Carrau, L.; Vallet, T.; Vignuzzi, M. Curcumin inhibits Zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding. *Antiviral Research* 2017, 142, 148-157.
- Nair, D.S.; Krishnakumar, K.; Krishnan, B. Pharmacological profile of curcumin: A review. *Journal of Bio Innovation* 2017, 6(4), 533-541.
- Nelson, K.M.; Dahlin, J.L.; Bisson, J.; Graham, J.; Pauli, G.F.; Walters, M.A. The essential medicinal chemistry of curcumin: miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry* 2017, 60(5), 1620-1637.
- Nessen, V.K.; Karg, M.; Hellweg, T. Thermoresponsive poly(*N*-isopropylmethacrylamide) microgels: Tailoring particle size by interfacial tension control. *Polymer* 2013, 54, 5499-5510.
- Netopilik, M.; Bohdanecky, M.; Chytrý, V.; Ulbrich, K. Cloud point of poly(*N*-isopropylmethacrylamide) solutions in water: is it really a point? *Macromolecular Rapid Communications* 1997, 18, 107-111.
- Niezabitowska, E.; Gray, D.M.; Gallardo-Toledo, E.; Owen, A.; Rannard, S.P.; McDonald, T.O. Understanding the Degradation of Core-Shell Nanogels Using Asymmetrical Flow Field Flow Fractionation. *Journal of Functional Biomaterials* 2023, 14(7), 346.
- Nikolić, V.; Stanković, M.; Nikolić, Lj.; Nikolić, G.; Ilić-Stojanović, S.; Popsavin, M.; Zlatković, S.; Kundaković, T. Inclusion complexes with cyclodextrin and usnic acid. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 2012, 76(1-2), 173-182.



- Nikolić, V.; Stanković, M.; Kapor, A.; Nikolić, Lj.; Cvetković, D.; Stamenković, J. Allylthiosulfinate:β-cyclodextrin inclusion complex: preparation, characterization and microbiological activity. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 2004, 59(11), 845-848.
- Nikolić, V.; Ilić, D.; Nikolić, Lj.; Stanković, M.; Cakić, M.; Stanojević, L.; Kapor, A.; Popsavin, M. The protection of nifedipin from photodegradation due to complex formation with β-cyclodextrin. *Open Chemistry* 2010, 8(4), 744-749.
- Nikolić, V.D.; Ilić-Stojanović, S.S.; Nikolić, L.B.; Cakić, M.D.; Zdravković, A.S.; Kapor, A.J.; Popsavin, M.M. Photostability of piroxicam in the inclusion complex with 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin. *Chemical Industry* 2014, 68(1), 107-116.
- Omidian, H.; Park, K. Introduction to hydrogels. In: *Biomedical applications of hydrogels handbook*. Springer 2010, 1-16.
- Onaciu, A.; Munteanu, R.A.; Moldovan, A.I.; Moldovan, C.S.; Berindan-Neagoe, I. Hydrogels Based Drug Delivery Synthesis, Characterization and Administration. *Pharmaceutics* 2019, 11(9), 432.
- Ortega-García, A.; Martínez-Bernal, B.G.; Ceja, I.; Mendizábal, E.; Puig-Arévalo, J.E.; Pérez-Carrillo, L.A. Drug delivery from stimuli-responsive Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-*N*-isopropylmethacrylamide)/ChitosanCore/Shell Nanohydrogels. *Polymers* 2022, 14(3), 522.
- Palomino, K.A.; Suarez-Meraz, A.; Serrano-Medina, A.; Olivas, A.; Samano, E.C.; Cornejo-Bravo, J.M. Microstructured poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels with fast temperature response for pulsatile drug delivery. *Journal of Polymer Research* 2015, 22, 199.
- Patel, N.A.; Patel, N.J.; Patel, R.P. Formulation and evaluation of curcumin gel for topical application. *Pharmaceutical Development and Technology* 2009, 14(1), 83-92.
- Pawłowska, S.; Rinoldi, C.; Nakielski, P.; Ziai, Y.; Urbanek, O.; Li, X.; Pierini, F. Ultraviolet Light-Assisted Electrospinning of Core-Shell Fully Cross-Linked P(NIPAAm-*co*-NIPMAAm) Hydrogel-Based Nanofibers for Thermally Induced Drug Delivery Self-Regulation. *Advanced Materials Interfaces* 2020, 7(12), 2000247.
- Peppas, N.A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2000, 50(1), 27-46.
- Peppas, N.A.; Khare, A.R. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1993, 11, 1-35.
- Permanadewi, I.; Kumoro, A.C.; Wardhani, D.H.; Aryanti, N. Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation. *Journal of Physics: Conference Series* 2019, 1295(1), 012063.

- Percot, A.; Lafleur, M.; Zhu, X.X. New hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide copolymers crosslinked with polylysine: membrane immobilization systems. *Polymer* 2000, 41, 7231-7239.
- Pemberton, M.A., Lohmann, B.S. Risk Assessment of residual monomer migrating from acrylic polymers and causing Allergic Contact Dermatitis during normal handling and use. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2014, 69, 467-475.
- Poulson, B.G.; Alsulami, Q.A.; Sharfalddin, A.; El Agammy, E.F.; Mouffouk, F.; Emwas, A.H.; Jaremko, M. Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides* 2021, 3(1), 1-31.
- Prasad, N.S.; Raghavendra R.; Lokesh B.; Naidu K.A. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2004, 70(6), 521–528.
- Priyadarsini, K.I. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules* 2014, 19(12), 20091-20112.
- Priyadarsini, I.K. Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin. *Current Pharmaceutical Design* 2013, 19(11), 2093-2100.
- Priyadarsini, K.I.; Maity, D.K.; Naik, G.H.; Kumar, M.S.; Unnikrishnan, M.K.; Satav, J.G.; Mohan, H. Role of phenolic OH and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine* 2003, 35(5), 475-484.
- Purpura, M.; Lowery, R.P.; Wilson, J.M.; Mannan, H.; Münch, G.; Razmovski-Naumovski, V. Analysis of different innovative formulations of curcumin for improved relative oral bioavailability in human subjects. *European Journal of Nutrition* 2018, 57(3), 929-938.
- Radecki, M.; Spěváček, J.; Zhigunov, A.; Sedláková, Z.; Hanyková, L. Temperature-induced phase transition in hydrogels of interpenetrating networks of poly(*N*-isopropylacrylamide) and polyacrylamide. *European Polymer Journal* 2015, 68, 68-79.
- Rachmawati, H.; Edityaningrum, C.A.; Mauludin, R. Molecular inclusion complex of curcumin- $\beta$ -cyclodextrin nanoparticle to enhance curcumin skin permeability from hydrophilic matrix gel. *American Association of Pharmaceutical Scientist* 2013, 14(4), 1303-1312.
- Raczkowska, J.; Stetsyshyn, Y.; Awsiuk, K.; Lekka, M.; Marzec, M.; Harhay, K.; Ohar, K.; Ostapiv, D.; Sharan, M.; Yaremchuk, I.; Bodnar, Y.; Budkowski, A. Temperature-responsive grafted polymer brushes obtained from renewable sources with potential application as substrates for tissue engineering. *Applied Surface Science* 2017, 407, 546-554.
- Shekhar, S.; Mukherjee, M.; Sen, A.K. Studies on thermal and swelling properties of Poly(NIPAM-*co*-2-HEA) based hydrogels. *Advanced Materials Research* 2012, 1, 269-284.

- Rahman, I.; Biswas, S.K.; Kirkham, P.A. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology* 2006, 72(11), 1439-1452.
- Rasheed, A. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. *Scientia Pharmaceutica* 2008, 76(4), 567-598.
- Rathore, S.; Mukim, M.; Sharma, P.; Devi, S.; Nagar, J. C.; Khalid, M. Curcumin: A Review for Health Benefits. *International Journal of Research and Review* 2020, 7(1), 273-290.
- Ratrey, P.; Dalvi, S.V.; Mishra, A. Enhancing aqueous solubility i antibacterial activity of curcumin by complexing with cell-penetrating octaarginine. *ACS Omega* 2020, 5(30), 19004-19013.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology Medicine* 1999, 26, 1231-1237.
- Rege, S.A.; Arya, M.; Momin, S.A. Mini review on Keto-Enol ratio of curcuminoids. *Ukrainian Journal of Food Science* 2019, 7(1), 27-32.
- Ribeiro, C.A.; Martins, M.V.S.; Bressiani, A.H.; Bressiani, J.C.; Leyva, M.E.; de Queiroz, A.A.A. Electrochemical preparation i characterization of PNIPAM-HAp scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science i Engineering: C* 2017, 81, 156-166.
- Rinoldi, C.; Lanzi, M.; Fiorelli, R.; Nakielski, P.; Zembrzycki, K.; Kowalewski, T.; Pierini, F. Three-dimensional printable conductive semi-interpenetrating polymer network hydrogel for neural tissue applications. *Biomacromolecules* 2021, 22(7), 3084-3098.
- Ritger, P.L.; Peppas, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release* 1987, 5, 37-42.
- Rožić, Lj.S.; Petrović, S.P.; Vuković, Z.M.; Novaković, T.B.; Stanisavljev, D.R. Response surface optimisation for activation of bentonite with microwave irradiation. *Chemical Industry* 2011, 65(5), 489-495.
- Ruiz-Rubio, L.; Álvarez, V.; Lizundia, E.; Vilas, J.L.; Rodríguez, M.; León, L.M. Influence of  $\alpha$ -methyl substitutions on interpolymer complexes formation between poly(meth)acrylic acids and poly(*N*-isopropyl(meth)acrylamide)s. *Colloid and Polymer Science* 2015, 293, 1447-1455.
- Rudzinski, W.E.; Dave, A.M.; Vaishnav, U.H.; Kumbar, S.G.; Kulkarni, A.R.; Aminabhavi, T.M. Hydrogels as controlled release devices in agriculture. *Designed Monomers and Polymers* 2002, 5(1), 39-65.

- Rwei, S.P.; Anh, T.H.N.; Chiang, W.Y.; Way, T.F.; Hsu, Y.J. Synthesis and drug delivery application of thermo-and pH-sensitive hydrogels: poly ( $\beta$ -CD-co-N-isopropylacrylamide-co-IAM). *Materials* 2016, 9(12), 1003.
- Saber-Moghaddam, N.; Salari, S.; Hejazi, S.; Amini, M.; Taherzadeh, Z.; Eslami, S.; Elyasi, S.; Rezayat, S.M.; Jaafari, M.R.; Elyasi, S. Oral nano-curcumin formulation efficacy in management of mild to moderate 28 hospitalized coronavirus disease-19 patients: An open label nonrandomized clinical trial. *Phytotherapy Research* 2021, 35(5), 2616-2623.
- Safie, N.E.; Ludin, N.A.; Su'ait, M.S.; Hamid, N.H.; Sepeai, S.; Ibrahim, M.A.; Teridi, M.A.M. Preliminary study of natural pigments photochemical properties of *Curcuma longa* L. and *Lawsonia inermis* L. as tio 2 photoelectrode sensitizer. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 2015, 19(6), 1243-1249.
- Saghatelyan, T.; Tananyan, A.; Janoyan, N.; Tadevosyan, A.; Petrosyan, H.; Hovhannisyan, A.; Hayrapetyan, L.; Arustamyan, M.; Arnhold, J.; Rotmann, A.R. Efficacy and safety of curcumin in combination with paclitaxel in patients with advanced, metastatic breast cancer: A comparative, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine* 2020, 70, 153218.
- Sahin, K.; Orhan, C.; Er, B.; Durmus, A.S.; Ozercan, I.H.; Sahin, N.; Padigar A.; Morde, A.; Rai, D. Protective Effect of a Novel Highly Bioavailable Formulation of Curcumin in Experimentally Induced Osteoarthritis Rat Model. *Current Developments in Nutrition* 2020, 4(Supplement\_2), 1765.
- Salmerón Sánchez, M.; Hanyková, L.; Ilavský, M.; Monleón Pradas, M. Thermal transitions of poly(N-isopropylmethacrylamide) in aqueous solutions, *Polymer* 2004, 45, 4087-4094.
- Samadi, A.; Haseli, S.; Pourmadadi, M.; Rashedi, H.; Yazdian, F.; Navaei-Nigjeh, M. Curcumin-loaded Chitosan-Agarose-Montmorillonite Hydrogel Nanocomposite for the Treatment of Breast Cancer. 27th National and 5th International Iranian Conference on Biomedical Engineering 2020, 148-153.
- Samineni, R.; Chimakurthy, J.; Konidala, S. Emerging Role of Biopharmaceutical Classification and Biopharmaceutical Drug Disposition System in Dosage form Development: A Systematic Review. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2022, 19(6), 706-713.
- Samarghandian, S.; Azimi-Nezhad, M.; Farkhondeh, T.; Samini, F. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017, 87, 223-229.
- SZO [https://www.who.int/health-topics/traditional-complementary-and-integrative-medicine#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/traditional-complementary-and-integrative-medicine#tab=tab_1), 29.12.2023.

- Santhamoorthy, M.; Kim, S.C. Dual pH-and Thermo-Sensitive Poly (*N*-Isopropylacrylamide-*co*-Allylamine) Nanogels for Curcumin Delivery: Swelling–Deswelling Behavior and Phase Transition Mechanism. *Gels* 2023, 9(7), 536.
- Saokham, P.; Muankaew, C.; Jansook, P.; Loftsson, T. Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. *Molecules* 2018, 23(5), 1161.
- Sarangi, M.K.; Padhi, S. Novel Herbal Drug Delivery System: An Overview. *Archives of Medicine and Health Sciences* 2018, 6(1), 171-179.
- Schild, H.G. Poly(*N*-isopropylacrylamide): experiment, theory and application. *Progress in Polymer Science* 1992, 17(2), 163-249.
- Shaikh, J.; Ankola, D.D.; Beniwal, V.; Singh, D.; Kumar, M.N.V.R. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009, 37(3-4), 223–230.
- Sharif, K.M.; Rahman, M.M.; Azmir, J.; Mohamed, A.; Jahurul, M.H.A.; Sahena, F.; Zaidul, I.S.M. Experimental design of supercritical fluid extraction–A review. *Journal of Food Engineering* 2014, 124, 105–116.
- Shefa, A.A.; Sultana, T.; Park, M.K.; Lee, S.Y.; Gwon, J.G.; Lee, B.T. Curcumin incorporation into an oxidized cellulose nanofiber-polyvinyl alcohol hydrogel system promotes wound healing. *Materials and Design* 2020, 186, 108313.
- Shen, L.; Ji, H.F. Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2007, 67(3-4), 619-623.
- Shoukat, H.; Buksh, K.; Noreen, S.; Pervaiz, F.; Maqbool, I. Hydrogels as potential drug-delivery systems: Network design and applications. *Therapeutic delivery* 2021, 12(5), 375-396.
- Shuja, M.; Majeed, I.; Riaz, T.; Waqar, M.A., Tabassam, N.; Mehboob, T.; Imtiaz, A. Formulation of Aloe vera based curcumin topical gel and its in-vitro evaluation. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 2023, 36(6).
- Shishodia, S.; Amin, H.M.; Lai, R.; Aggarwal, B.B. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF- $\kappa$ B activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochemical Pharmacology* 2005, 70(5), 700-71.
- Si, X.; Wang, Y.; Wong, J.; Zhang, J.; McManus, B.M.; Luo, H. Dysregulation of the ubiquitin-proteasome system by curcumin suppresses coxsackievirus B3 replication. *Journal of Virology* 2007, 81(7), 3142-3150.
- Sim, S.; Figueiras, A.; Veiga, F. Modular hydrogels for drug delivery. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 2012, 3, 185-199.

- Singh, B.; Sharma, D.K.; Gupta, A. In vitro release dynamics of thiram fungicide from starch and poly(methacrylic acid)-based hydrogels. *Journal of Hazardous Materials* 2008, 154(1-3), 278-286.
- Soleimani, V.; Sahebkar, A.; Hosseinzadeh, H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. *Phytotherapy Research* 2018, 32, 985–995.
- Soni, V.K.; Mehta, A.; Ratre, Y.K.; Tiwari, A.K.; Amit, A.; Singh, R.P.; Sonkar S.C.; Chaturvedi, N.; Shukla, D.; Vishvakarma, N.K. Curcumin, a traditional spice component, can hold the promise against COVID-19? *European Journal of Pharmacology* 2020, 886, 173551.
- Spěváček, J. NMR investigations of phase transition in aqueous polymer solutions and gels. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 2009, 14, 184-191.
- Spěváček, J.; Dybal, J. Stimuli-Responsive Polymers in Solution Investigated by NMR and Infrared Spectroscopy. *Macromolecular Symposia* 2011, 303, 17-25.
- Stanojević, Lj.; Stanojević, J.; Cvetković, D.; Cakić, M.; Ilić, D.. Antioksidativna aktivnost etanolnogekstraktalistagajene jagode (*Fragariae folium*). *Hemijska Industrija* 2015, 69(5), 567–576.
- Stanojević, M.; Kalagasidis-Krušić, M.; Filipović, J.; Parojčić, J., Stupar, M. An investigation into the Influence of Hydrogel Composition on Swelling Behavior and Drug Release from Poly(Acrylamide-co-Itaconic Acid) Hydrogels in Various Media. *Drug Delivery* 2006, 13(1), 1–7.
- Starovoytova, L.; Spěváček, J.; Ilavský, M. <sup>1</sup>H NMR study of temperature-induced phase transitions in D2O solutions of poly(*N*-isopropylmethacrylamide)/poly(*N*-isopropylacrylamide) mixtures and random copolymers. *Polymer* 2005, 46, 677-683.
- Šťastná, J.; Hanyková, L.; Sedláková, Z.; Valentová, H.; Spěváček, J. Temperature-induced phase transition in hydrogels of interpenetrating networks poly(*N*-isopropylmethacrylamide)/poly(*N*-isopropylacrylamide). *Colloid and Polymer Science* 2013, 291, 2409-2417.
- Stella, V.J.; Rao, V.M.; Zannou, E.A.; Zia, V. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. *Advanced drug delivery reviews* 1999, 36(1), 3-16.
- Stohs, S.J.; Chen, O.; Ray, S.D.; Ji, J.; Bucci, L.R.; Preuss, H.G. Highly bioavailable forms of curcumin and promising avenues for curcumin-based research and application: A review. *Molecules* 2020, 25(6), 1397.

- Subhan, F.; Khalil, A.A.K.; Zeeshan, M.; Haider, A.; Tauseef, I.; Haleem, S.K.; Ibrahim, A.S. Curcumin: From Ancient Spice to Modern Anti-Viral Drug in COVID-19 Pandemic. *Life Sciences* 2020, 1(supplement), 69-73.
- Tang, B.; Ma, L.; Wang, H. Y.; Zhang, G. Y. Study on the supramolecular interaction of curcumin and  $\beta$ -cyclodextrin by spectrophotometry and its analytical application. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002, 50(6), 1355-1361.
- Tang, Y.; Ding, Y.; Zhang, G. Role of Methyl in the Phase Transition of Poly(*N*-isopropylmethacrylamide). *Journal of Physical Chemistry B* 2008, 112(29), 8447-8451.
- Tang, Y.; Liu, X. Collapse kinetics for individual poly(*N*-isopropylmethacrylamide) chains. *Polymer* 2010, 51, 897-901.
- Tang, X.L.; Guo, S.M.; Liu, Z.D.; Tang, R.Z.; Pang, J.Y.; Chen, Y. Preparation of thermo-sensitive poly (*N*-isopropylacrylamide) film using KHz alternating current Dielectric barrier discharge. *3rd International Forum on Energy, Environment Science and Materials* 2018, 598-602.
- Telford, J.K. A brief introduction to design of experiments. *Johns Hopkins apl technical digest* 2007, 27(3), 224-232.
- Teymouri, M.; Pirro, M.; Johnston, T.P.; Sahebkar, A. Curcumin as a multifaceted compound against human papilloma virus infection and cervical cancers: A review of chemistry, cellular, molecular, and preclinical features. *Biofactors* 2017, 43(3), 331-346.
- Thimmulappa, R.K.; Kumar, M.N.K.; Shivamallu, C.; Subramaniam, K.T.; Radhakrishnan, A.; Suresh, B.; Kuppusamy, G. Antiviral and immunomodulatory activity of curcumin: A case for prophylactic therapy for COVID-19. *Heliyon* 2021, 7(2), e06350.
- Tian, B.; Liu, S.; Wu, S.; Lu, W.; Wang, D.; Jin, L.; Hu, B.; Li, K.; Wang, Z.; Quan, Z. pH-responsive poly (acrylic acid)-gated mesoporous silica and its application in oral colon targeted drug delivery for doxorubicin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2017, 154, 287-296.
- Tiktopulo, E.I.; Uversky, V.N.; Lushchik, V.B.; Klenin, S.I.; Bychkova, V.E.; Ptitsyn, O.B. Domain coile globule transition in homopolymers. *Macromolecules* 1995, 28, 7519-7524.
- Toden, S.; Goel, A. The holy grail of curcumin and its efficacy in various diseases: is bioavailability truly a big concern? *Journal of Restorative Medicine* 2017, 6(1), 27.
- Tyagi, P.; Singh, M.; Kumari, H.; Kumari, A.; Mukhopadhyay, K. Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PloS One* 2015, 10(3), e0121313.

- Ullah, F.; Othman, M.B.H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H.M. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering C* 2015, 57, 414-433.
- Ullah, F.; Asgarov, R.; Venigalla, M.; Liang, H.; Niedermayer, G.; Münch, G.; Gyengesi, E. Effects of a solid lipid curcumin particle formulation on chronic activation of microglia and astroglia in the GFAP-IL6 mouse model. *Scientific Reports* 2020, 10(1), 1-19.
- Volak, L.P.; Hanley, M.J.; Masse, G.; Hazarika, S.; Harmatz, J.S.; Badmaev, V.; Majeed, M.; Greenblatt, D.J.; Court, M.H. Effect of a herbal extract containing curcumin and piperine on midazolam, flurbiprofen and paracetamol (acetaminophen) pharmacokinetics in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2013, 75(2), 450–462.
- Valizadeh, H.; Abdolmohammadi-Vahid, S.; Danshina, S.; Gencer, M.Z.; Ammari, A.; Sadeghi, A.; Ahmadi, M. Nano-curcumin therapy, a promising method in modulating inflammatory cytokines in COVID-19 patients. *International Immunopharmacology* 2020, 89, 107088.
- Valand, N.N.; Patel, M.B.; Menon, S.K. Curcumin-p-sulfonatocalix [4] resorcinarene (p-SC[4]R) interaction: thermo-physico chemistry, stability and biological evaluation. *The Royal Society of Chemistry advances* 2015, 5(12), 8739-8752.
- Vallo, C.I.; Montemartini, P.E.; Cuadrado, T.R. Effect of residual monomer content on some properties of a poly (methyl methacrylate)- based bone cement. *Journal of Applied Polymer Science* 1998, 69, 1367-1383.
- Vuleta, G.; Milić, J. *Magistralne formule: MF 2008*. Beograd: Farmaceutsko društvo Srbije, 2008.
- Waghmare, P.; Kadu, P. Solubility enhancement of curcumin using HPMC K 15M by solvent change precipitation method. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 2014, 4(2), 1-7.
- Wang, J.; Wu, W.; Lin, Z. Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/styrene copolymer hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science* 2008, 109(5), 3018-3023.
- Wang, Z.; Hart, E.; Pelton, R. Hypochlorite activated poly(*N*-isopropylacrylamide)-core poly(*N*-isopropylmethacrylamide)-shell microgels-An oxidant with the potential to kill cells. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2014, 457, 340-344.
- Wang, J.; Cao, Y.; Sun, B.; Wang, C. Physicochemical and release characterisation of garlic oil- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *Food Chemistry* 2011, 127(4), 1680-1685.

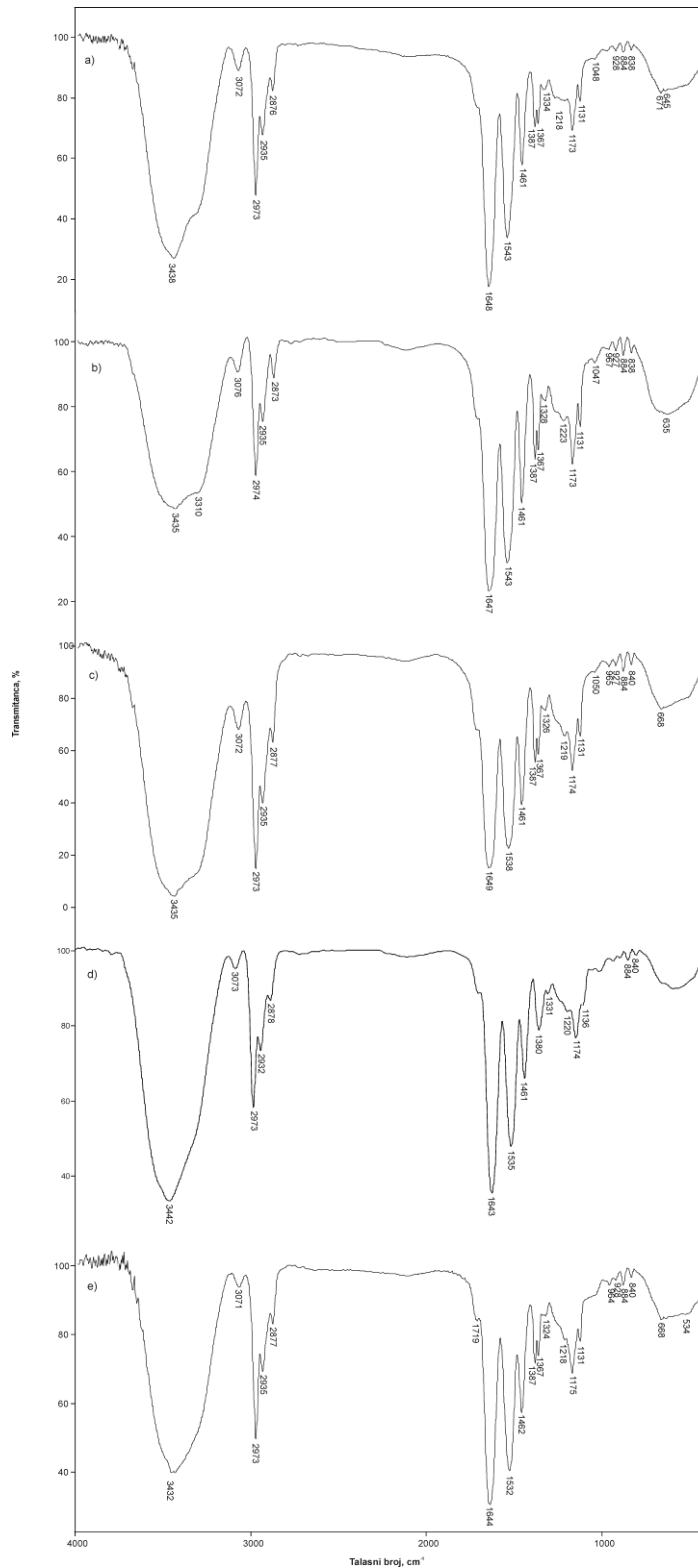


- Wang, F.; Lai, Y.H.; Han, M.Y. Stimuli-Responsive Conjugated Copolymers Having Electro-Active Azulene and Bithiophene Units in the Polymer Skeleton: Effect of Protonation and p-Doping on Conducting Properties. *Macromolecules* 2007, 37, 3222-3230.
- Wang, J.; Wang, L.; Zhang, L.; He, D.; Ju, J.; Li, W. Studies on the curcumin phospholipid complex solidified with Soluplus®. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2018, 70(2), 242-249.
- Wang, Z.; Jia, Y.; Zhang, M. Effect of curcumin on the quality properties of millet fresh noodle and its inhibitory mechanism against the isolated spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition* 2020, 8(3), 1451-1460.
- Wedel, B.; Hertle, Y.; Wrede, O.; Bookhold, J.; Hellweg, T. Smart Homopolymer Microgels: Influence of the Monomer Structure on the Particle Properties. *Polymers* 2016, 8(4), 1-21.
- Wright, J.S. Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *Journal of Molecular Structure-theochem* 2002, 591(1-3), 207-217.
- Wu, L.P.; Noda, I.; Wu, Y. Quantitative comparison of reversibility in thermal-induced hydration of poly(*N*-isopropylacrylamide) and poly(*N*-isopropylmethacrylamide) in aqueous solutions by “concatenated” 2D correlation analysis. *Vibrational Spectroscopy* 2012, 60, 200-205.
- Wu, X.S.; Hoffman, A.S.; Yager, P. Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 1992, 30(10), 2121-2129.
- Wüpper, S.; Lüersen, K.; Rimbach, G. Cyclodextrins, Natural Compounds, and Plant Bioactives- A Nutritional Perspective. *Biomolecules* 2021, 11(3), 401.
- Xie, X.; Bahnemann, J.; Wang, S.; Yang, Y.; Hoffmann, M.R. “Nanofiltration” Enabled by Super-Absorbent Polymer Beads for Concentrating Microorganisms in Water Samples. *Scientific Reports* 2016, 6, 20516.
- Yanagisawa, D.; Shirai, N.; Amatsubo, T.; Taguchi, H.; Hirao, K.; Urushitani, M.; Morino, K. Relationship between the tautomeric structures of curcumin derivatives and their Abeta-binding activities in the context of therapies for Alzheimer's disease. *Biomaterials* 2010, 31(14), 4179-4185.
- Yu, N.; Li, G.; Gao, Y.; Jiang, H.; Tao, Q. Thermo-sensitive complex micelles from sodium alginate-graft-poly(*N*-isopropylacrylamide) for drug release. *International Journal of Biological Macromolecules* 2016, 86, 296-301.
- Yu, Y.; Shen, Q.; Lai, Y.; Park, S.Y.; Ou, X.; Lin, D.; Zhang, W. Anti-inflammatory effects of curcumin in microglial cells. *Frontiers in Pharmacology* 2018, 9, 386.

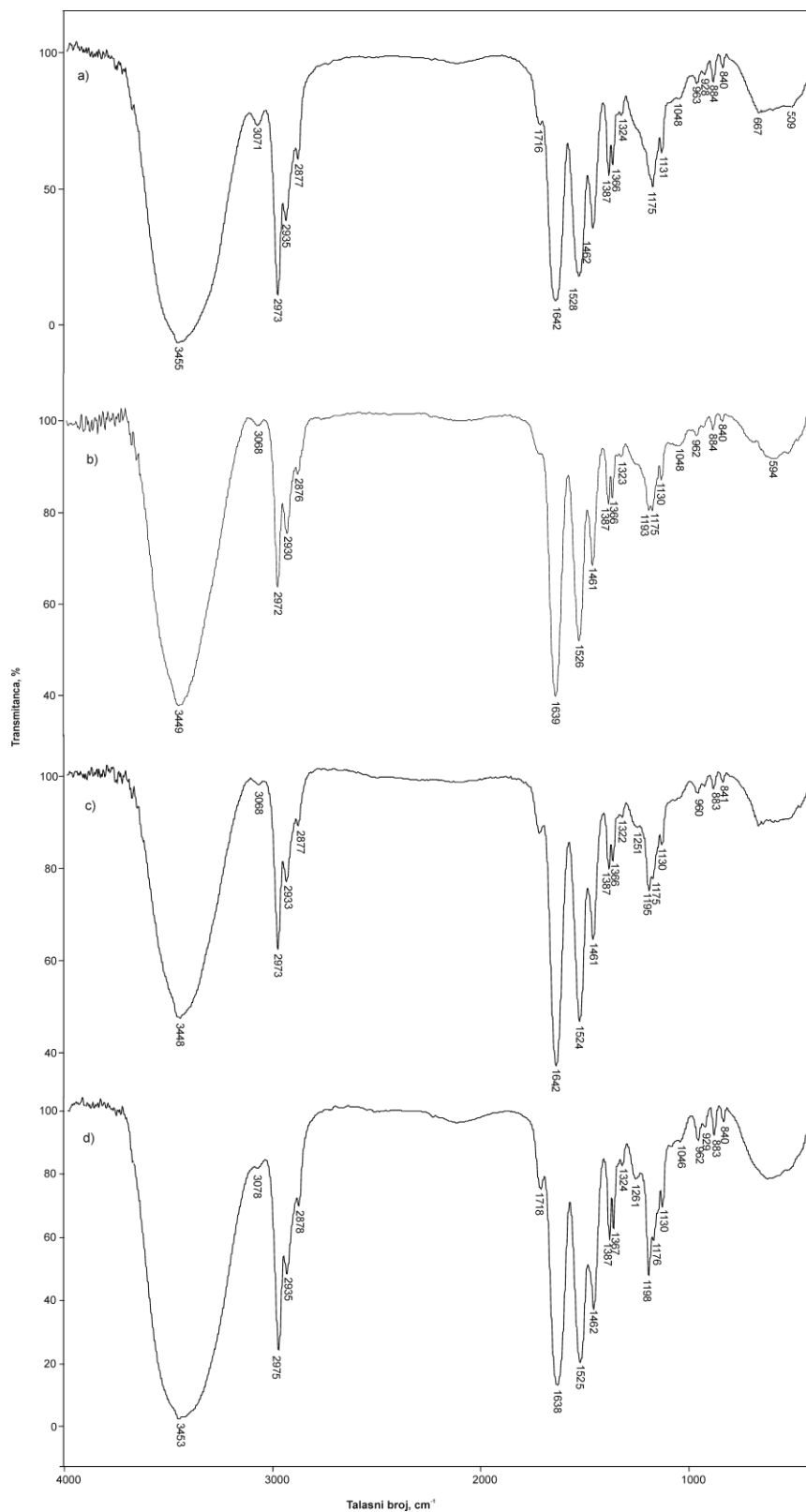
- Zabeti, M.; Daud, W.M.A.W.; Aroua, M.K. Biodiesel production using alumina-supported calcium oxide: an optimization study. *Fuel Processing Technology* 2010, 91(2), 243–248.
- Zahedipour, F.; Hosseini, S.A.; Sathyapalan, T.; Majeed, M.; Jamialahmadi, T.; Al- Rasadi, K.; Banach, M.; Sahebkar, A. Potential effects of curcumin in the treatment of COVID- 19 infection. *Phytotherapy Research* 2020, 34(11), 2911-2920.
- Zhang, X.Z.; Yang, Y.Y.; Wang, F.J.; Chung, T.S. Thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) hydrogels with expanded network structures and improved oscillating swelling–deswelling properties. *Langmuir* 2002, 18, 2013-2018.
- Zhang, Y.; Huo, M.; Zhou, J.; Zou, A.; Li, W.; Yao, C.; Xie, S. DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *American Association of Pharmaceutical Scientists* 2010, 12, 263-271.
- Zhang, Y.; Cai, J.; Li, C.; Wei, J.; Liu, Z.; Xue, W. Effects of thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide) on blood coagulation. *Journal of Materials Chemistry B* 2016, 4, 3733-3749.
- Zheng, B.; McClements, D.J. Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability. *Molecules* 2020, 25(12), 2791.
- Zheng, D.; Huang, C.; Huang, H.; Zhao, Y.; Khan, M.R.U.; Zhao, H.; Huang, L. Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. *Chemistry & Biodiversity* 2020, 17(8), e2000171.
- Zhu, J.; Sanidad, K.Z.; Sukamtoh, E.; Zhang, G. Potential roles of chemical degradation in the biological activities of curcumin. *Food & Function* 2017, 8(3) 907-914.
- Ziai, Y.; Petronella, F.; Rinoldi, C.; Nakielski, P.; Zakrzewska, A.; Kowalewski, T.A., Pierini, F. Chameleon-inspired multifunctional plasmonic nanoplatfoms for biosensing applications. *NPG Asia Materials* 2022, 14(1), 18.
- Zdravković, A.S.; Nikolić, L.B.; Ilić-Stojanović, S.S.; Nikolić, V.D.; Savić, S.R.; Kapor, A.J. The evaluation of temperature i pH influences on equilibrium swelling of poly (*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) hydrogels. *Chemical Industry* 2017, 71(5), 395-405.

# PRILOZI

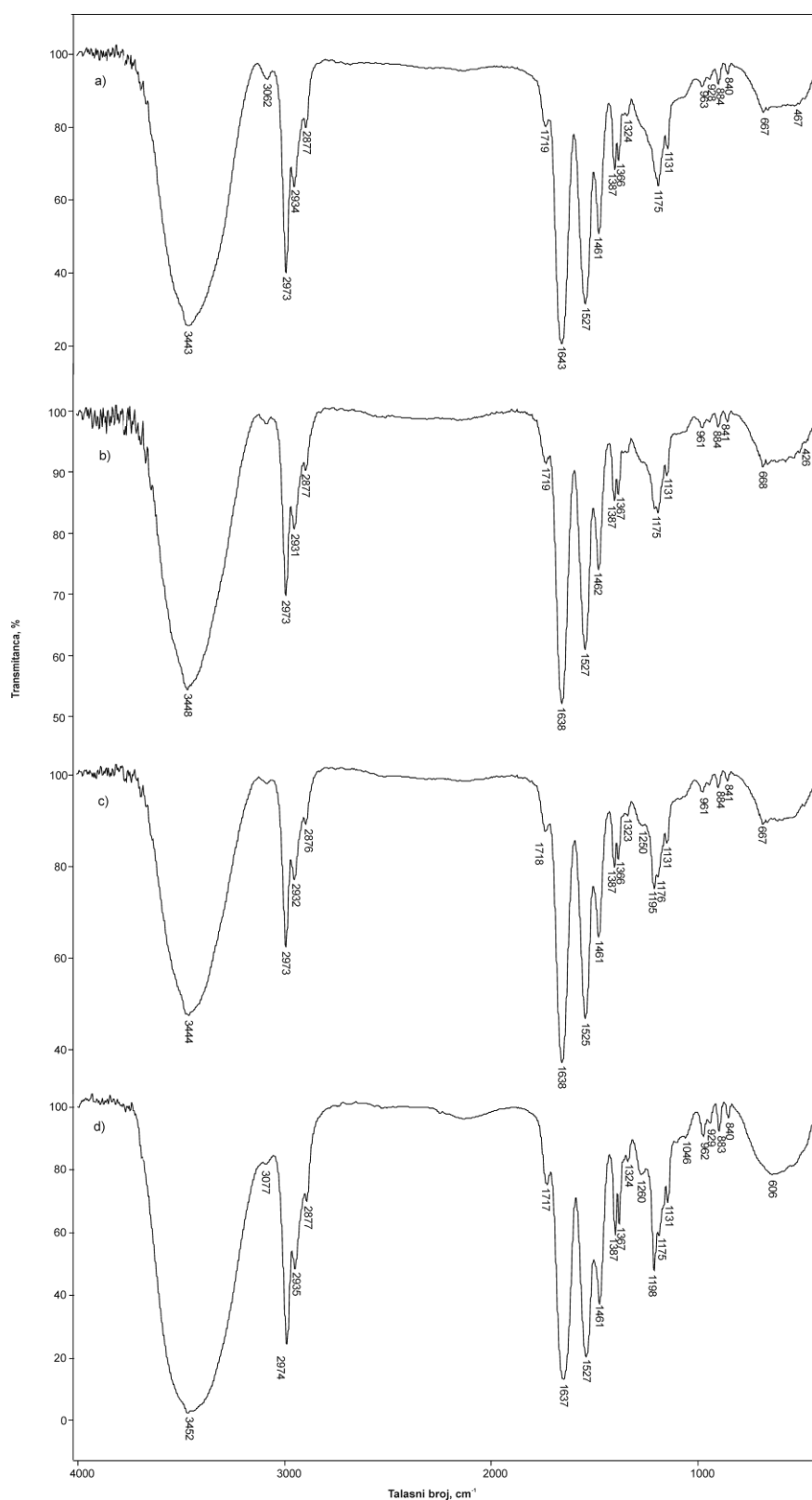
## Prilog 1. FTIR analiza sintetisanih hidrogelova



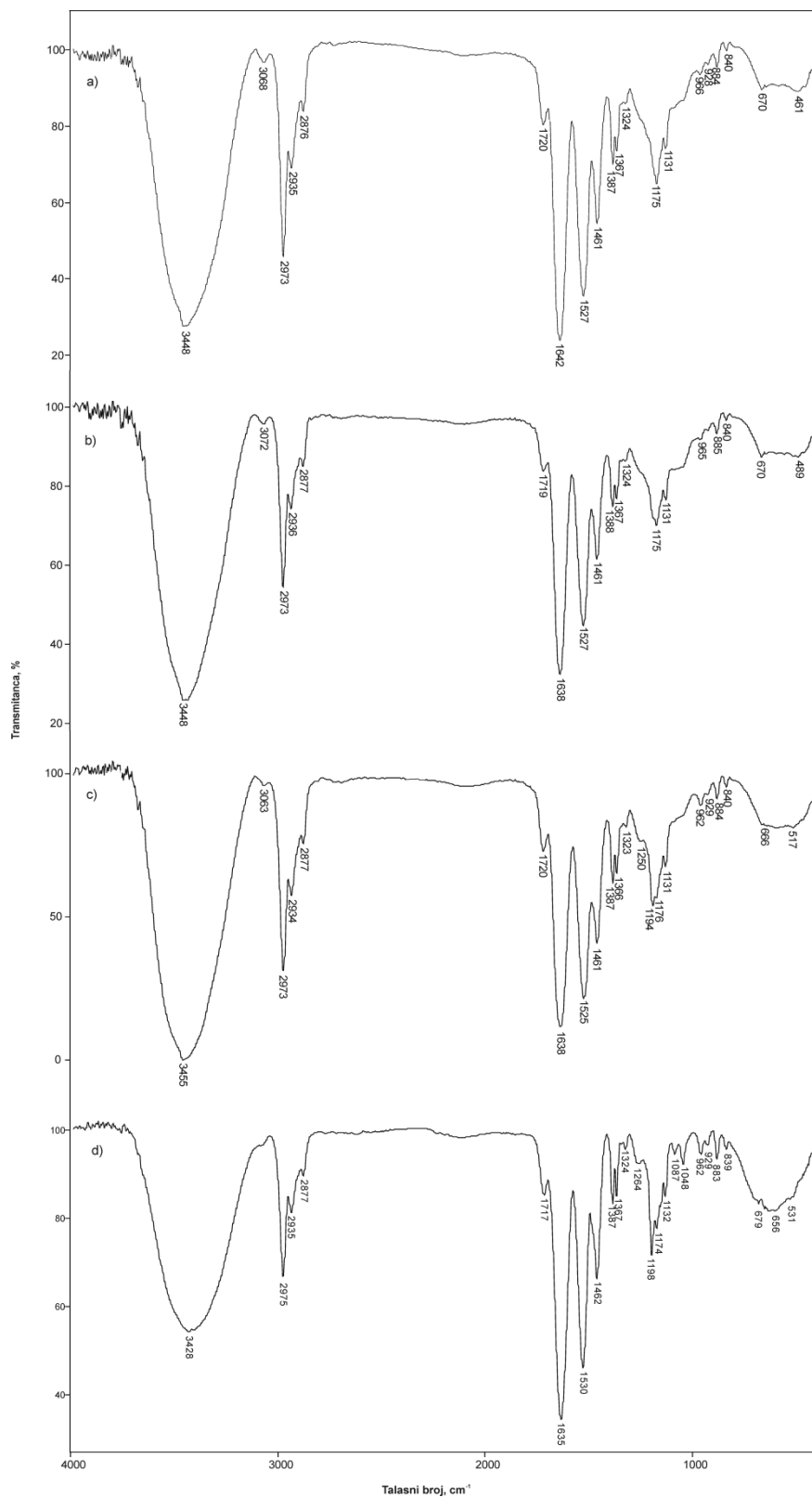
Slika 1. FTIR spektri p(NiPMAM-ko-NiPAM) kopolimera sa 1,5 mol% EGDM-a: a) 10/90/1,5, b) 20/80/1,5, c) 30/70/1,5, d) 40/60/1,5 i e) 50/50/1,5



Slika 2. FTIR spektri p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa 1,5 mol% EGDM-a: a) 60/40/1,5, b) 70/30/1,5, c) 80/20/1,5, d) 90/10/1,5



Slika 3. FTIR spektri p(NiPMAm-ko-NiPAm) kopolimera sa 2 mol% EGDM-a: a) 60/40/2, b) 70/30/2, c) 80/20/2, d) 90/10/2



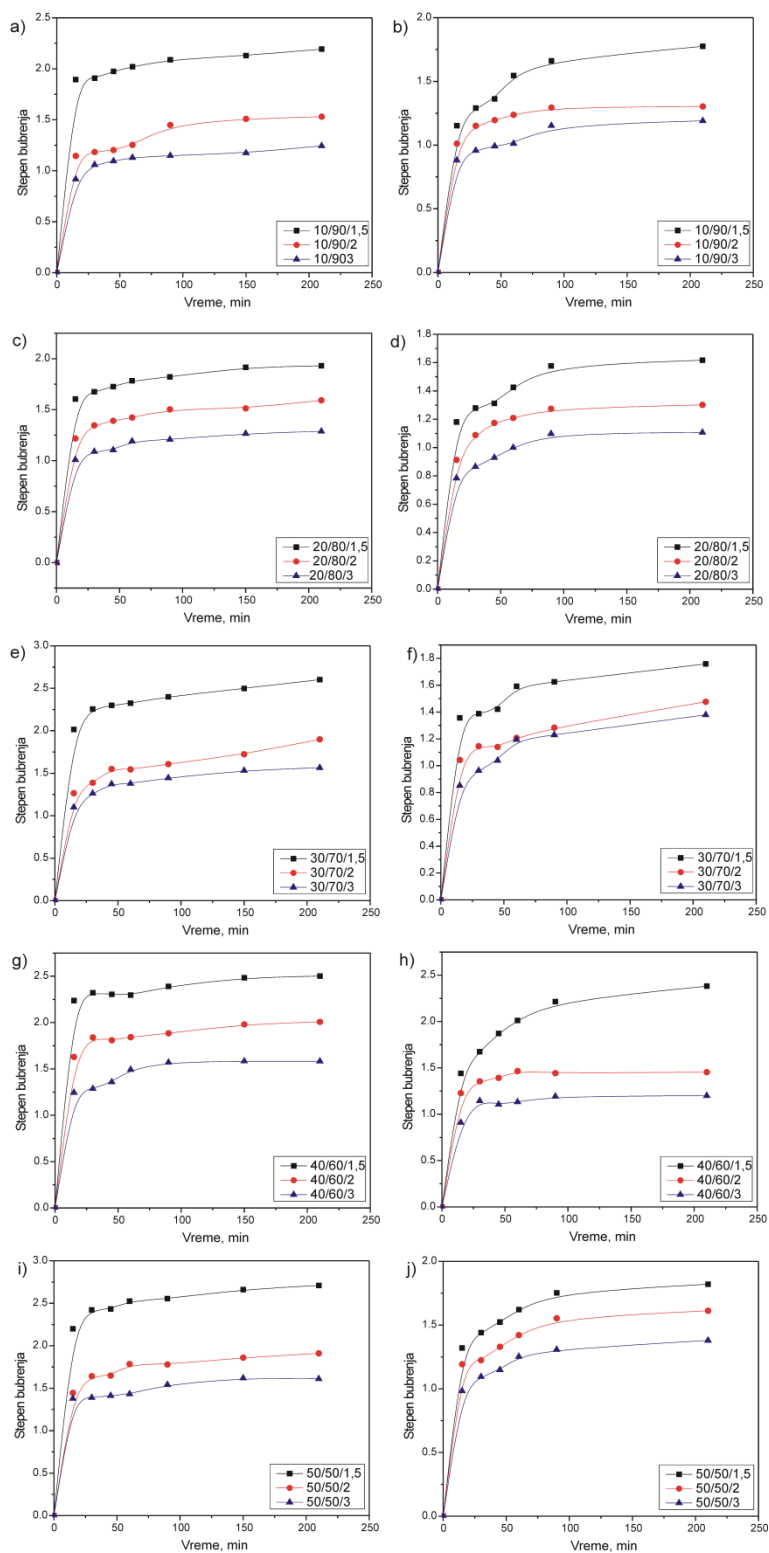
Slika 4. FTIR spektri p(NiPMam-ko-NiPAm) kopolimera sa 3 mol% EGDM-a: a) 60/40/3, b) 70/30/3, c) 80/20/3, d) 90/10/3

## Prilog 2. HPLC analiza rezidualnih reaktanata

Tabela 1. Sadržaj rezidualnih reaktanata u sintetisanim p(NiPMAM/NiPAM) hidrogelovima.

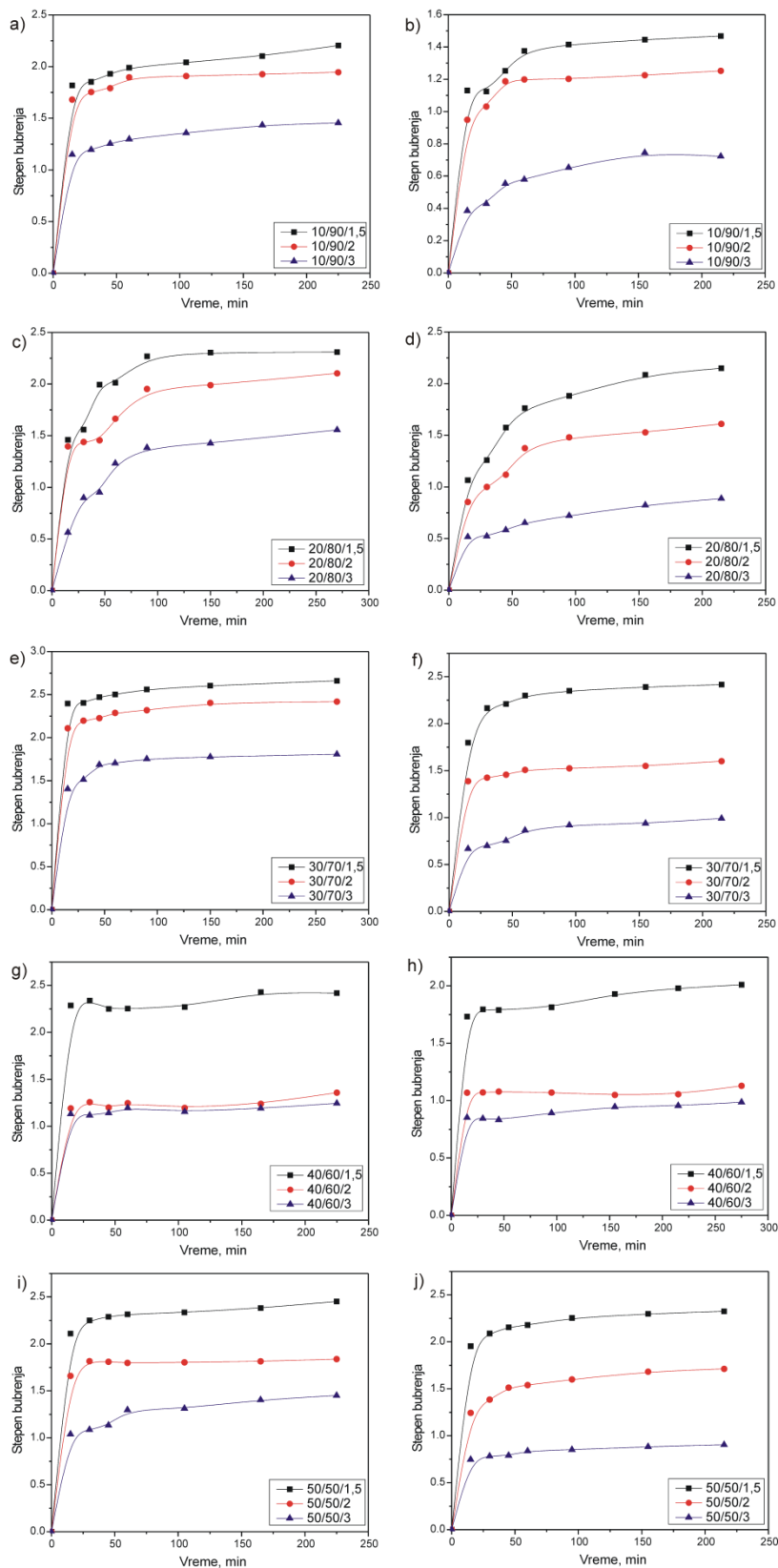
Sadržaj rezidualnih reaktanata u uzorku p(NiPMAM-ko-NiPAM)	NiPAM		NiPMAM	
	mg/g	%	mg/g	%
60/40/1,5	98,41	1,64	100,34	0,99
60/40/2	31,94	2,84	32	1,69
60/40/3	22,19	2,41	15,72	1,01
70/30/1,5	26,31	2,76	36,54	1,46
70/30/2	40,29	4,39	72,41	3
70/30/3	34,46	6,08	49,78	3,35
80/20/1,5	5,70	0,18	2,13	0,09
80/20/2	136,44	6,22	262,5	2,66
80/20/3	55,71	13,37	128,57	6,84
90/10/1,5	21,01	0,72	2,62	0,12
90/10/2	170,16	15,68	517,5	4,72
90/10/3	57	26,27	207	9,43

### Prilog 3. Uticaj pH vrednosti medijuma, temperature i sadržaja umreživača na stepen bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

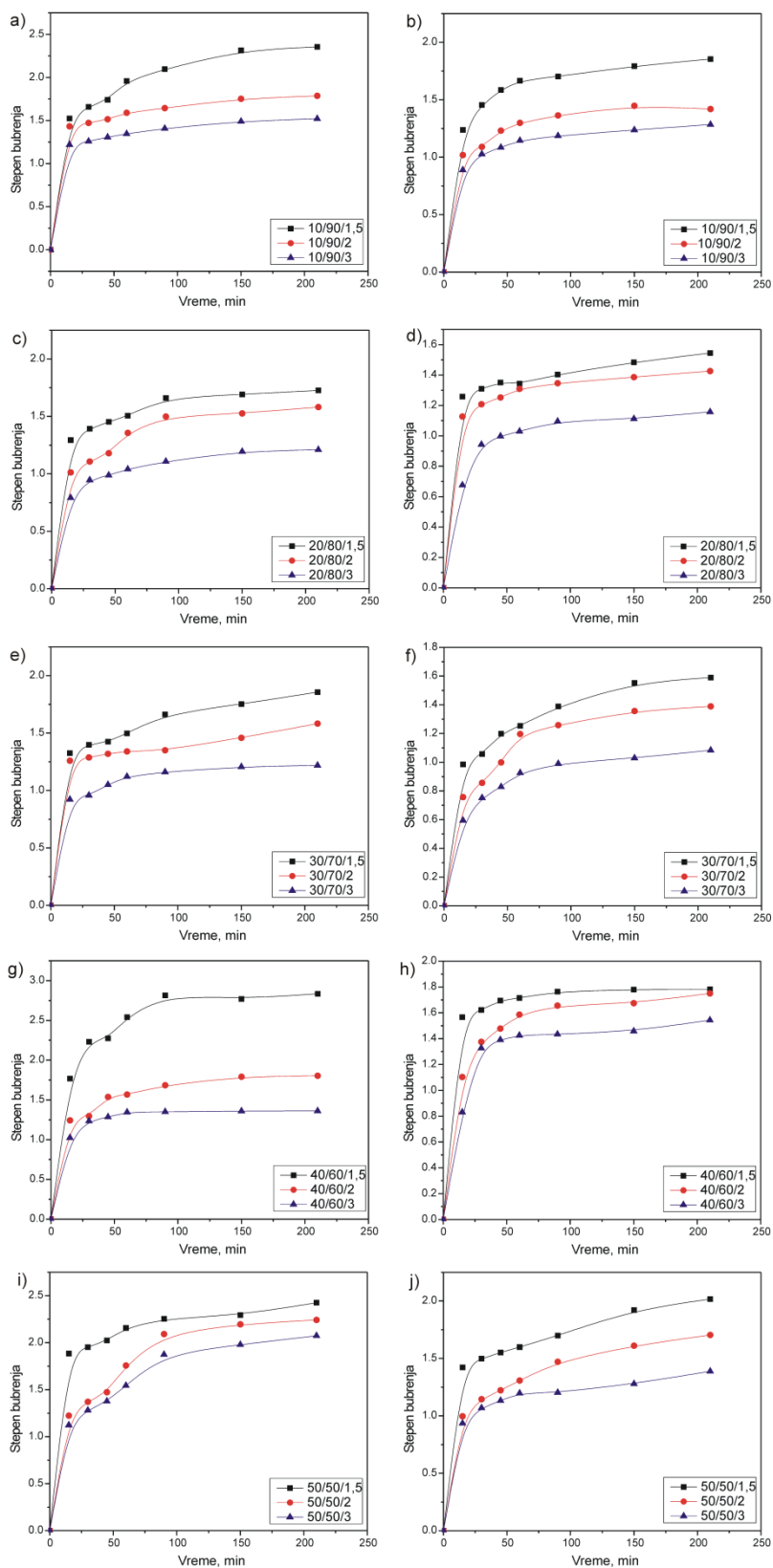


Slika 1. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 4 na: 60 °C (a, c, e, g, i) i 80 °C (b, d, f, h, j)

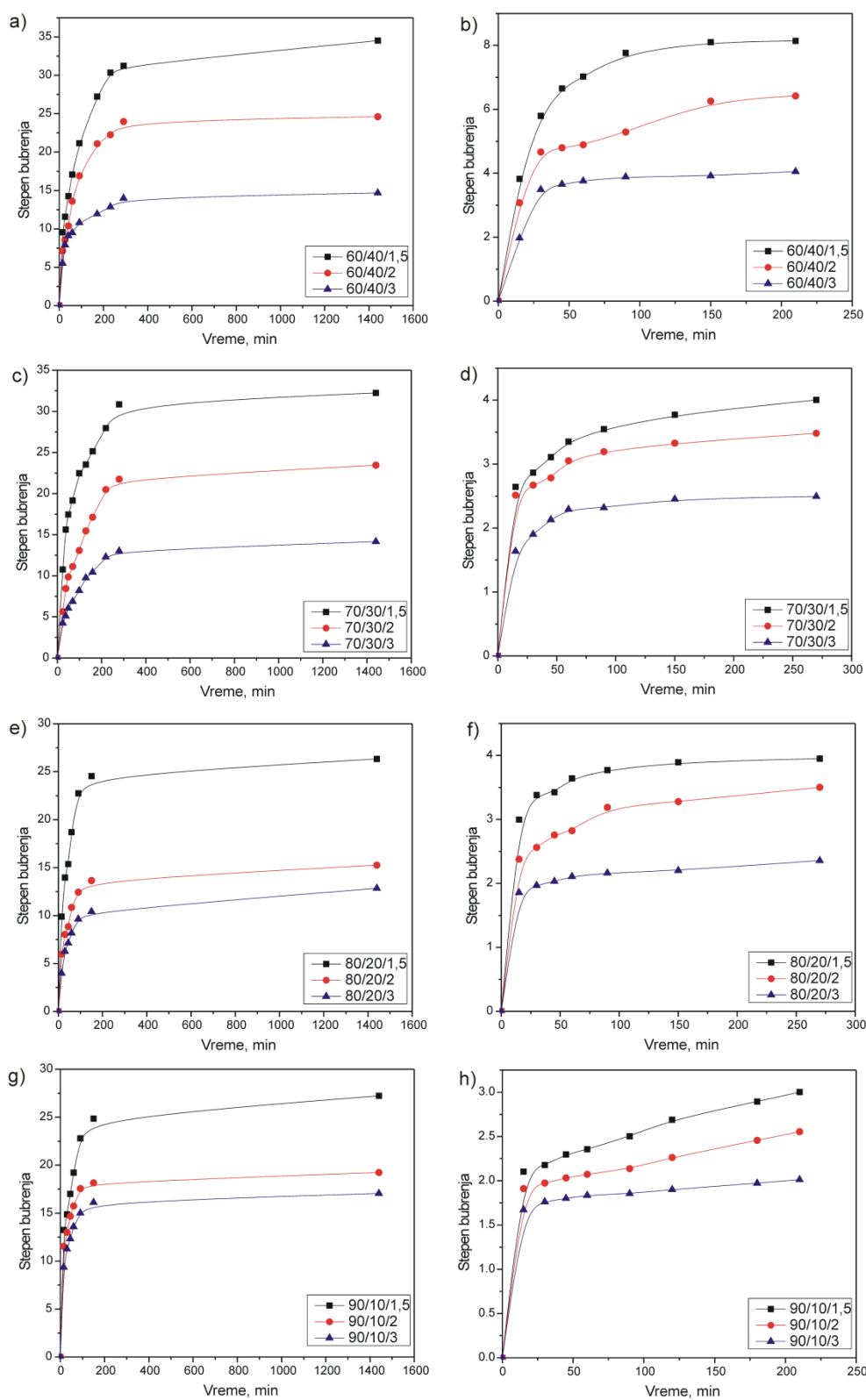




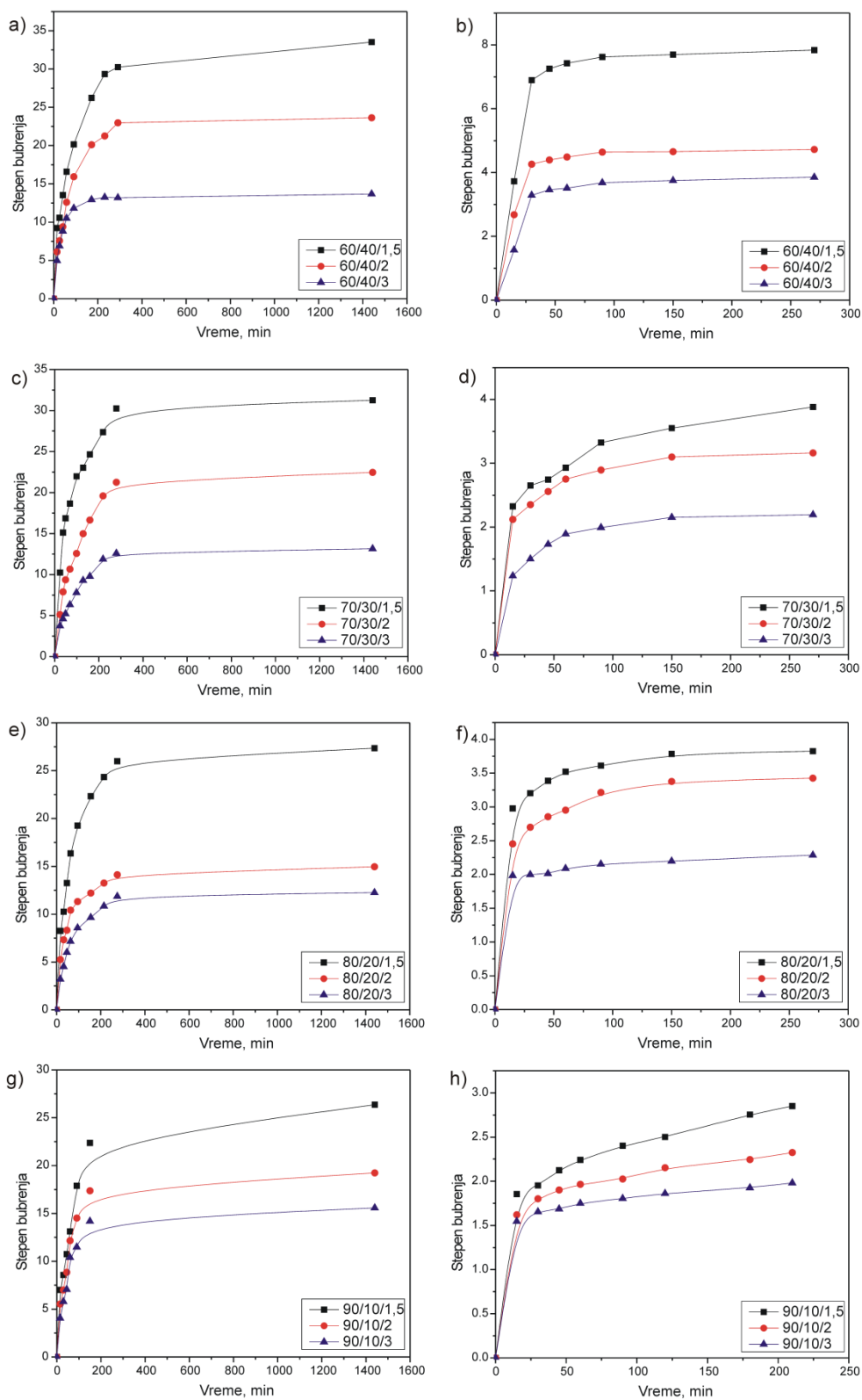
Slika 2. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 7,4 na: 60 °C (a, c, e, g, i) i 80 °C (b, d, f, h, j)



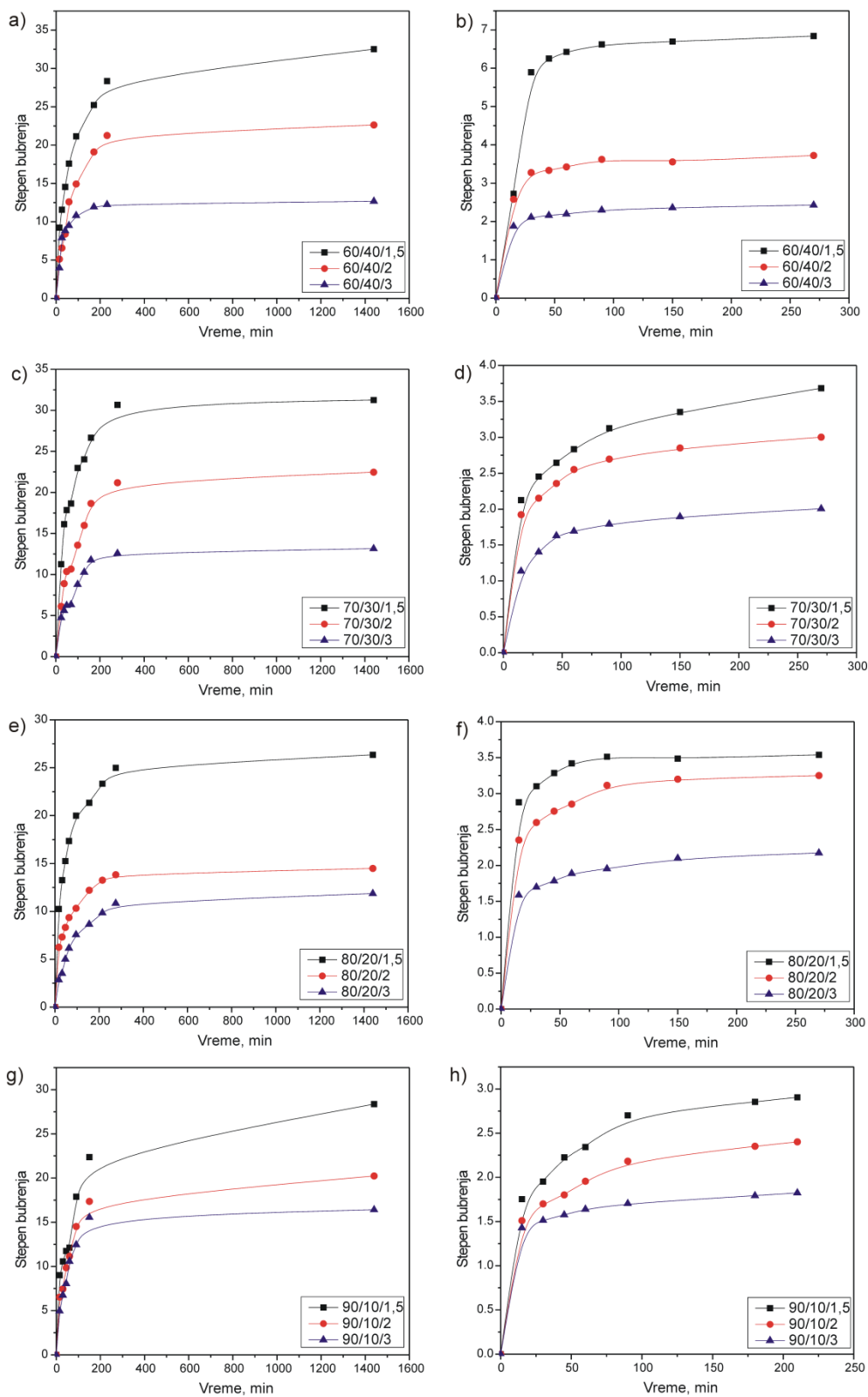
Slika 3. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 8 na: 60 °C (a, c, e, g, i) i 80 °C (b, d, f, h, j)



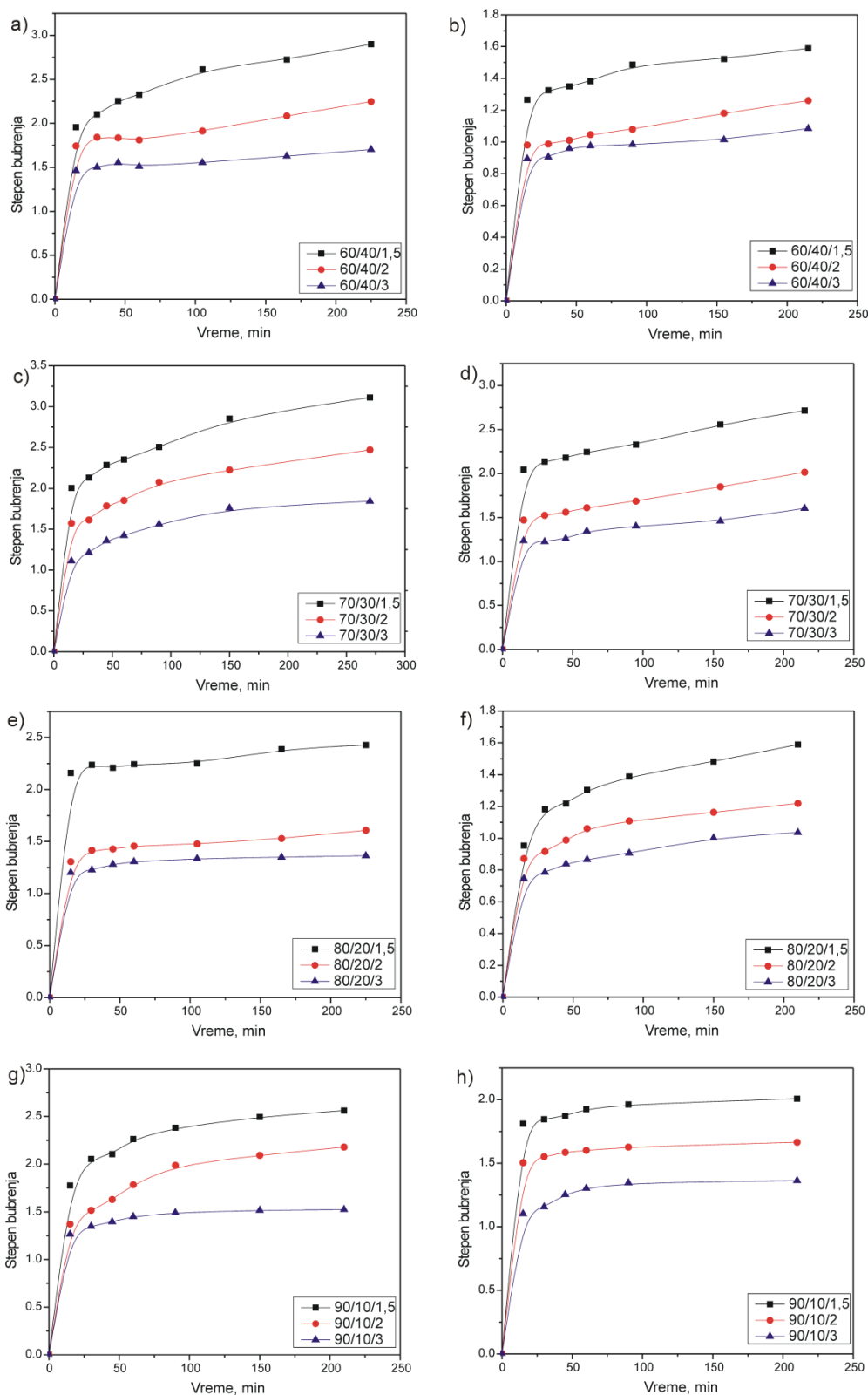
Slika 4. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 4 na: 25 °C (a, c, e, g) i 37 °C (b, d, f, h)



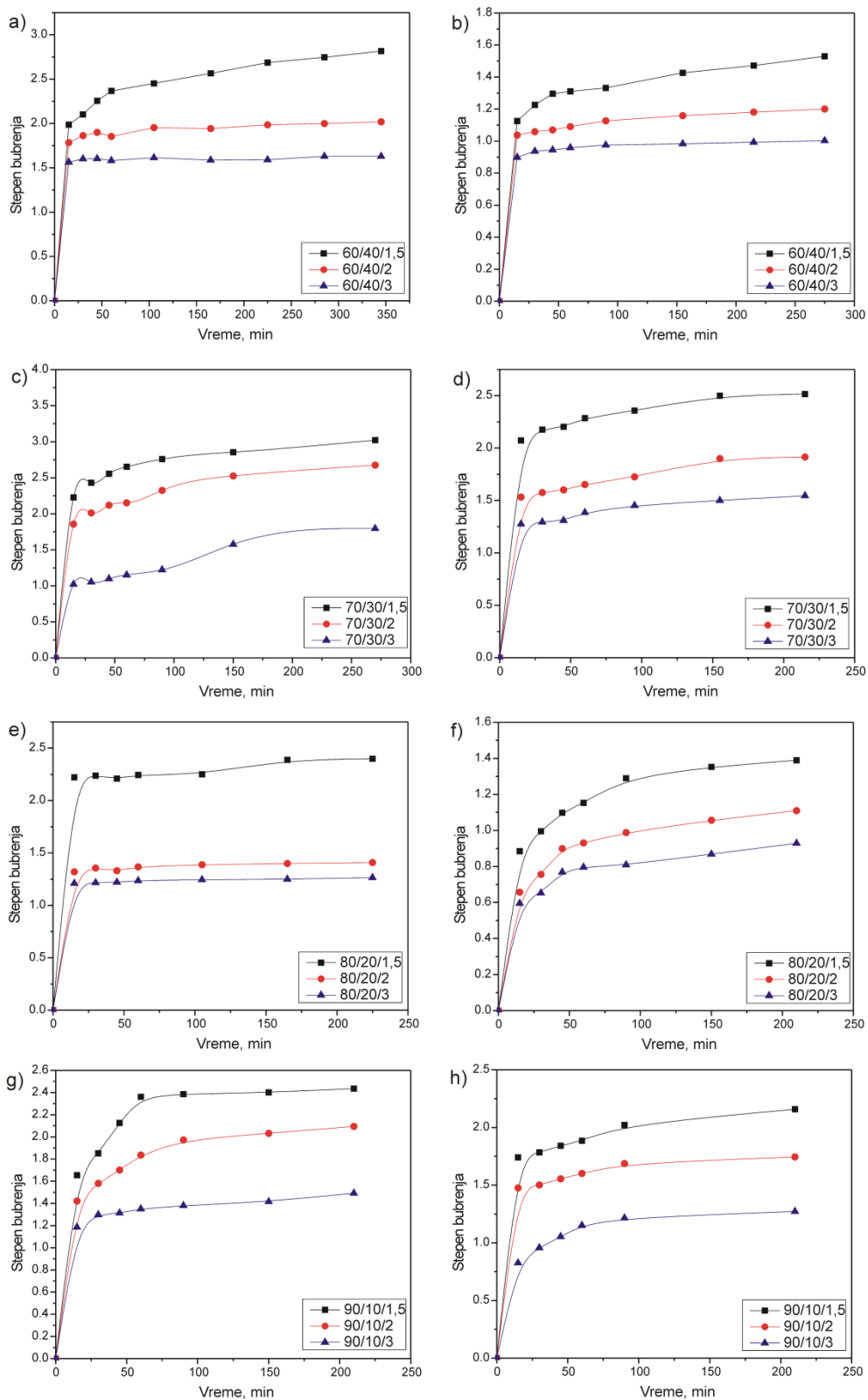
Slika 5. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 7,4 na: 25 °C (a, c, e, g) i 37 °C (b, d, f, h)



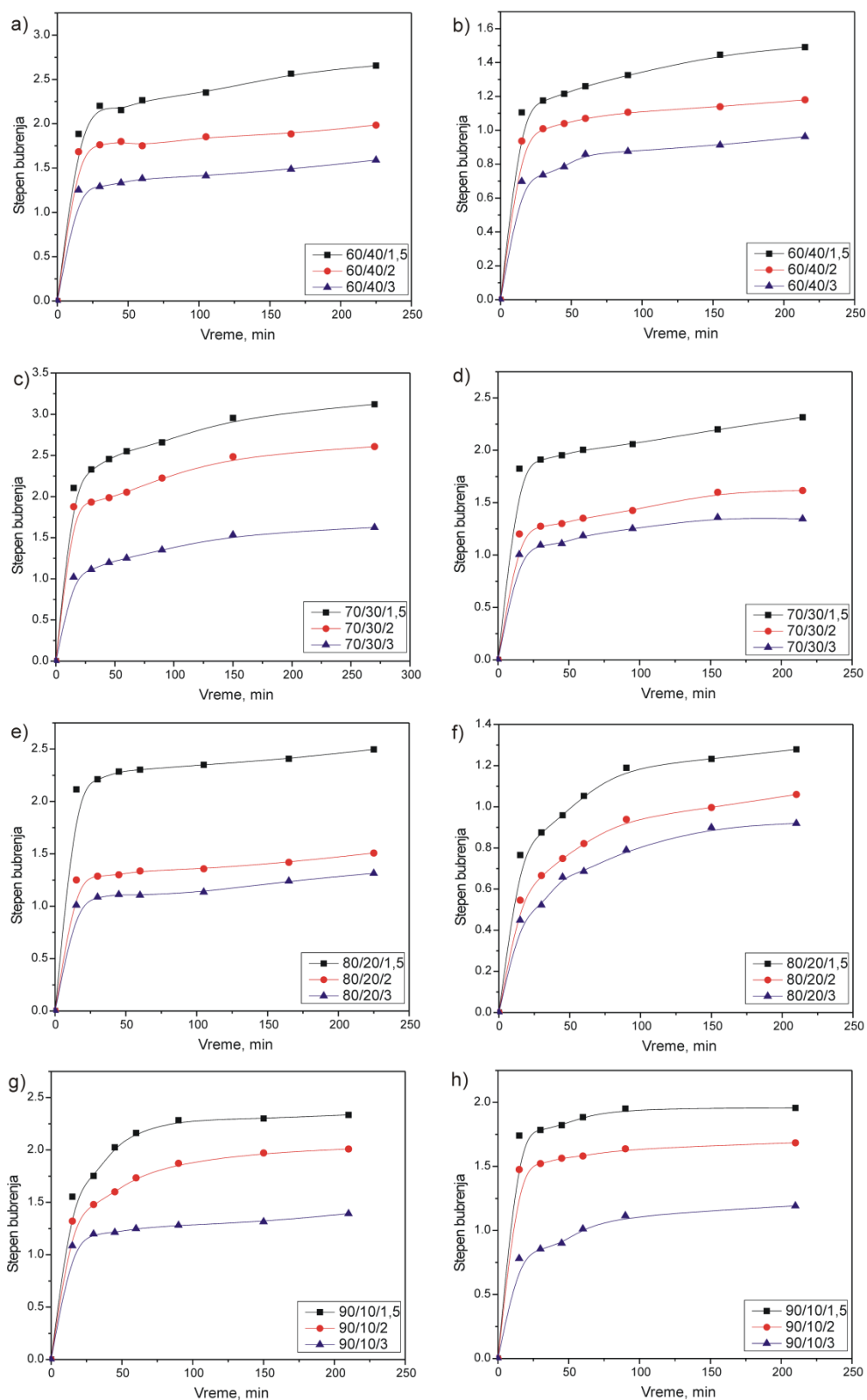
Slika 6. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 8 na: 25 °C (a, c, e, g) i 37 °C (b, d, f, h)



Slika 7. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 4 na: 60 °C (a, c, e, g) i 80 °C (b, d, f, h)

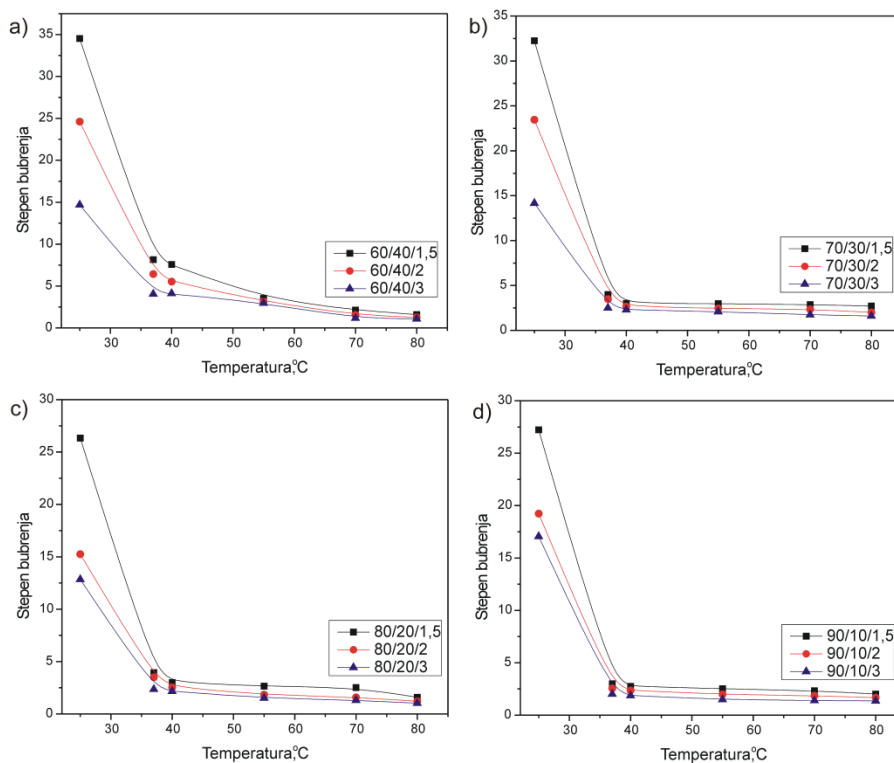


Slika 8. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 7,4 na: 60 °C (a, c, e, g) i 80 °C (b, d, f, h)

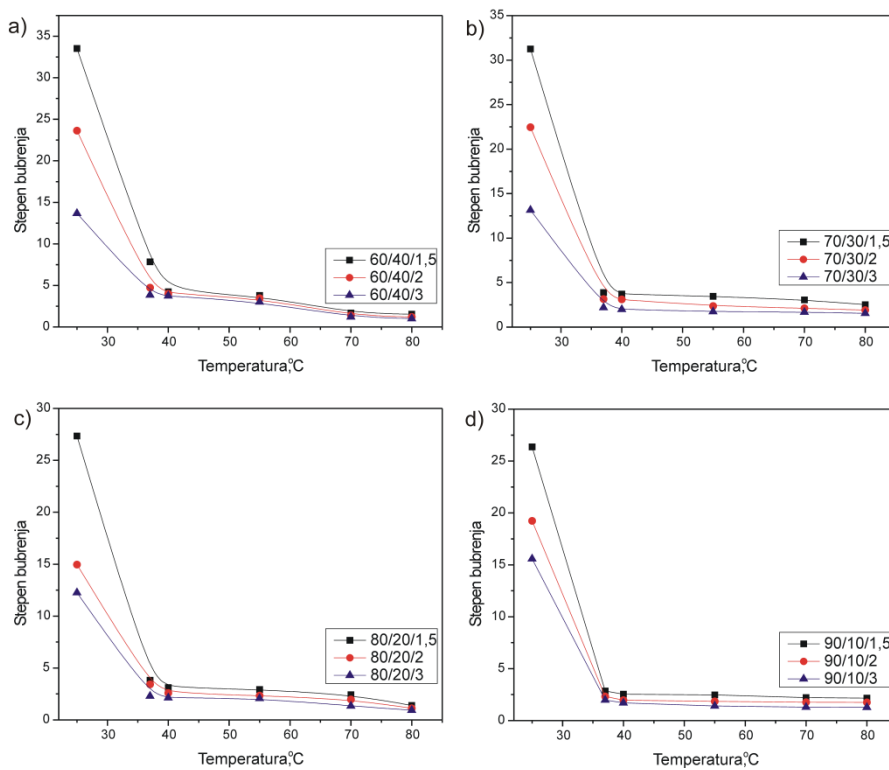


Slika 9. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od vremena u rastvoru pH 8 na: 60 °C (a, c, e, g) i 80 °C (b, d, f, h)

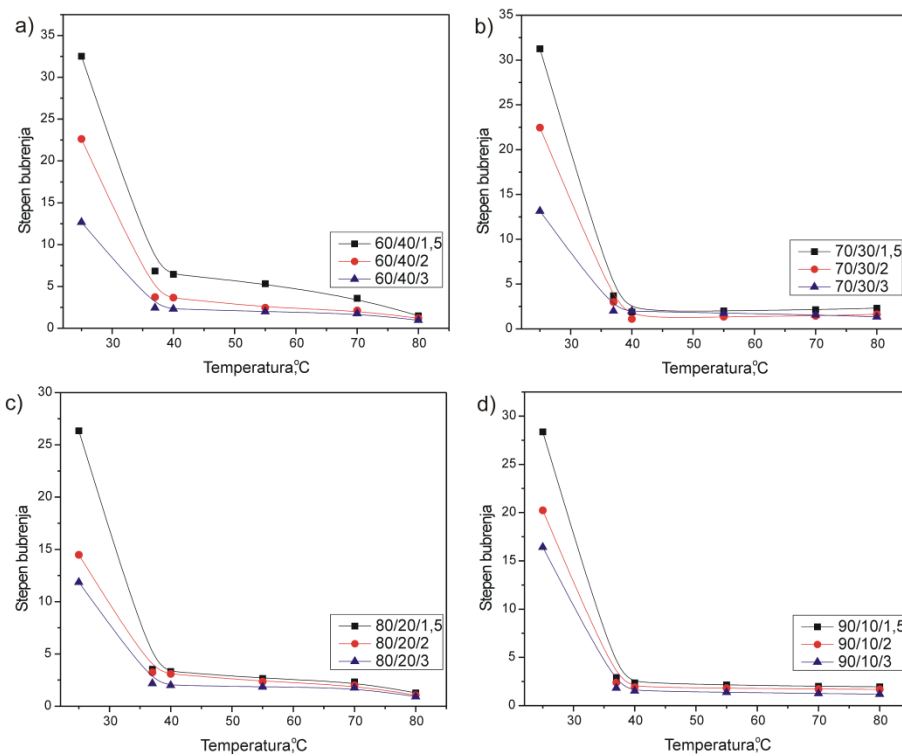




Slika 10. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMam-ko-NiPAm) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 4



Slika 11. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMam-ko-NiPAm) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 7,4



Slika 12. Zavisnost stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova od temperature u rastvoru pH vrednosti 8

**Prilog 4. Modelovanje procesa bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 7,4 i 8**

**Rezultati modelovanja procesa bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 7,4**

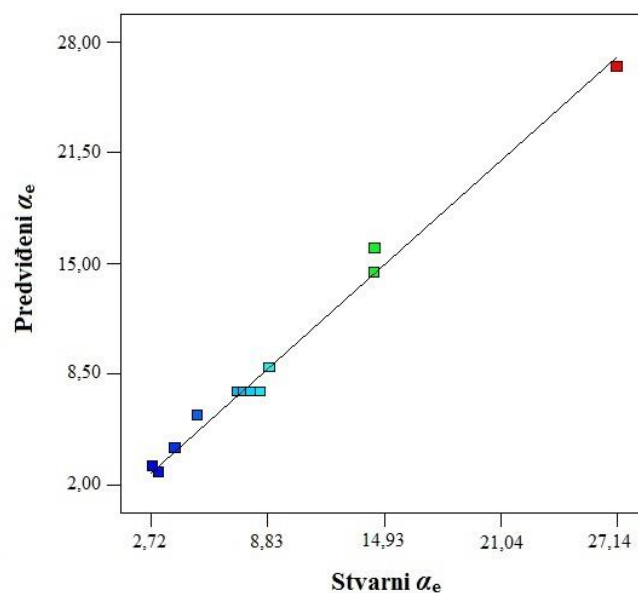
Tabela 1. Matrica CDD dizajna sa vrednostima ravnotežnih stepena bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

Broj eksperimenta	$t$ (°C)	Sadržaj NiPMAM (mol%)	$\alpha_e$
6	45	50	2,813
1	30	30	14,458
4	40	70	3,108
10	35	50	7,782
8	35	90	5,141
12	35	50	7,965
13	35	50	8,459
9	35	50	7,287
2	40	30	3,984
5	25	50	27,143
11	35	50	7,579
7	35	10	8,931
3	30	70	14,407

Tabela 2. Rezultati analize varijanse za redukovani kvadratni model ravnotežnog bubrenja p(NiPMAM-ko-NiPAm) hidrogelova

	$SS$	$df$	$MS$	$F$	$p$
Model	503,90	3	167,97	313,47	<0,0001
$X_1$	413,40	1	413,40	771,51	<0,0001
$X_2$	6,03	1	6,03	11,25	0,0085
$X_2^2$	84,47	1	84,47	157,64	< 0,0001
Reziduali	4,82	9	0,54		
Odstupanje od modela	4,05	5	0,81	4,19	0,0949
Čista greška	0,77	4	0,19		
Ukupna korekcija	508,72	12			

Standardna devijacija: 0,73;  $R^2 = 0,9905$ ;  $R_{adj}^2 = 0,9874$ ;  $R_{pred}^2 = 0,9654$

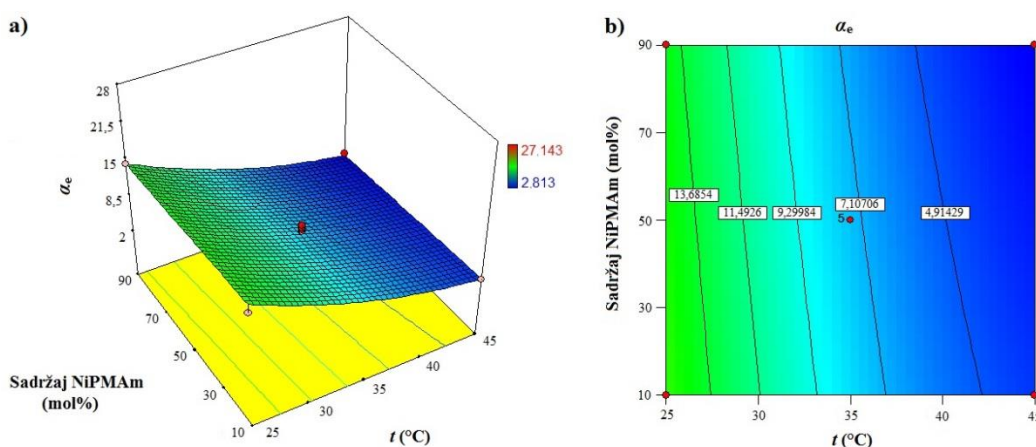


Slika 1. Zavisnost predviđenih i stvarnih vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Jednačina modela sa kodiranim (1) i stvarnim (2) vrednostima faktora:

$$Y = 7,46 - 5,87X_1 - 0,71X_2 + 1,84X_2^2 \quad (1)$$

$$\alpha_e = 7,45889 - 5,86942t - 0,70892 \text{ sadržaj NiPMAm} + 1,84095t^2 \quad (2)$$



Slika 2. Dijagram površine odgovora a) i konturni dijagram b) za ravnotežno bubrenje p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova u funkciji temperature i sastava hidrogelova

**Rezultati modelovanja procesa bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova sa 2 mol% EGDM-a u rastvoru pH vrednosti 8**

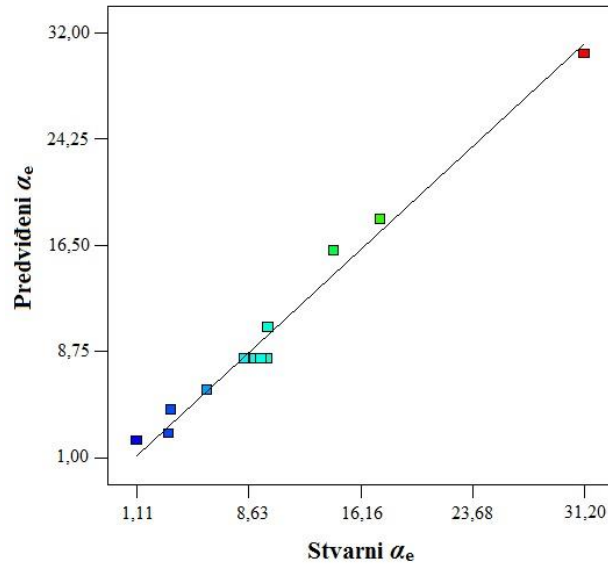
Tabela 3. Matrica CDD dizajna sa vrednostima ravnotežnih stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Broj eksperimenta	$t$ (°C)	Sadržaj NiPMAm (mol%)	$\alpha_e$
1	30	30	17,466
2	40	30	3,417
11	35	50	9,033
10	35	50	9,893
3	30	70	14,333
5	25	50	31,201
13	35	50	9,463
7	35	10	9,931
4	40	70	1,112
12	35	50	8,322
9	35	50	8,734
8	35	90	5,848
6	45	50	3,263

Tabela 4. Rezultati analize varijanse za redukovani kvadratni model ravnotežnog bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Model	701,37	3	233,79	162,74	<0,0001
$X_1$	576,10	1	576,10	401,02	<0,0001
$X_2$	15,42	1	15,42	10,74	0,0096
$X_2^2$	109,85	1	109,85	76,46	<0,0001
<i>Reziduali</i>	12,93	9	1,44		
<i>Odstupanje od modela</i>	11,43	5	2,29	6,08	0,0524
<i>Čista greška</i>	1,50	4	0,38		
<i>Ukupna korekcija</i>	714,30	12			

Standardna devijacija: 1,20;  $R^2 = 0,9819$ ;  $R_{adj}^2 = 0,9759$ ;  $R_{pred}^2 = 0,9482$

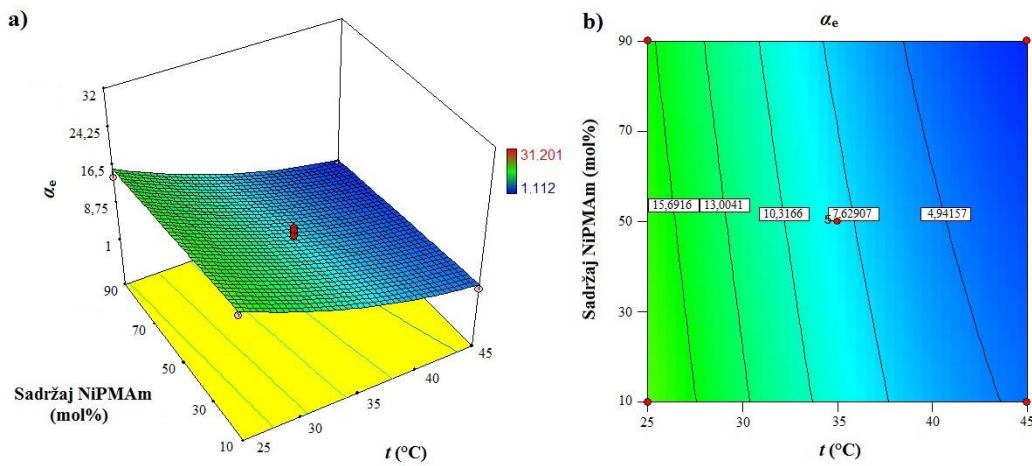


Slika 3. Zavisnost predviđenih i stvarnih vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja p(NiPMAm-ko-NiPAm) hidrogelova

Jednačina modela sa kodiranim (3) i stvarnim (4) vrednostima faktora:

$$Y = 8,22 - 6,93 X_1 - 1,13 X_2 + 2,10 X_2^2 \quad (3)$$

$$\alpha_e = 8,21719 - 6,92883 t - 1,13367 \text{ sadržaj NiPMAm} + 2,109938 t^2 \quad (4)$$



Slika 4. Dijagram površine odgovora a) i konturni dijagram b) za ravnotežno bubrenje hidrogelova u funkciji temperature i sastava hidrogelova

## BIOGRAFIJA

Master inženjer tehnologije Maja Z. Urošević rođena je 02.06.1991. godine u Leskovcu. Osnovnu školu „Đura Jakšić“ završila je u Turekovcu, sa odličnim uspehom i Vukovom diplomom. Godine 2007. upisala je Medicinsku školu u Leskovcu, smer farmaceutski tehničar. Srednju školu završila je sa odličnim uspehom. Godine 2010. upisala je osnovne akademske studije na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu. Školske 2013/14. godine bila je stipendista Fonda za mlade talente-Dositeja za najbolje studente završnih godina osnovnih akademskih studija. Osnovne akademske studije završila je 2014. godine sa prosečnom ocenom 9,63. Master akademske studije na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu upisala je 2014. godine. Maja Urošević je 2015. godine završila master akademske studije sa prosečnom ocenom 10,00 i odbranila diplomski rad pod nazivom „Korišćenje hidrogelova na bazi *N*-izopropilakrilamida i metakrilne kiseline za adsorpciju teških metala“ sa ocenom 10, time je stekla zvanje Master inženjer tehnologije. Od strane Srpskog hemijskog društva nagrađena je Specijalnim priznanjem za postignut uspeh tokom studija za 2015. godinu. Doktorske akademske studije upisala je školske 2015/2016. godine na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu, studijski program Tehnološko inženjerstvo. Položila je sve ispite predviđene planom i programom, sa prosečnom ocenom 10. Maja Urošević stiče status stipendiste Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije od 01. aprila 2016. god. (broj: 451-03-01398/2016-14 ev. broj 2032) do 01. juna 2018. god. kada u svojstvu istraživača-pripravnika počinje da radi na projektu TR-34012 „Biljni i sintetički bioaktivni proizvodi novije generacije“, a od 16. aprila 2021. god. kao istraživač saradnik na projektu koji finansira Ministarstvo nauke tehnološkog razvoja i inovacija. Maja Urošević je angažovana na izvođenju vežbi na osnovnim i master akademskim studijama počev od školske 2017/2018. godine iz predmeta: Polimerno inženjerstvo, Koloidna hemija, Metode ispitivanja polimera, Organska hemija, Sinteza farmakološki aktivnih supstanci i Savremeni polimerni materijali.

Kandidat se bavi naučno-istraživačkim radom. Autor je i koautor 8 radova objavljenih u međunarodnim časopisima, 3 rada u nacionalnim časopisima, 30 rada saopštenih na međunarodnim skupovima i 8 radova saopštenih na skupovima nacionalnog značaja štampanih u izvodu, jednog tehničkog rešenja, jednog prijavljenog patenta, 4 objavljena i jednog registrovanog patenta.

## BIBLIOGRAFIJA

### Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21b)

1. Snežana Ilić-Stojanović, Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Djordje Petrović, Jelena Stanojević, Stevo Najman, Vesna Nikolić. Intelligent Poly(*N*-Isopropylmethacrylamide) Hydrogels: Synthesis, Structure Characterization, Stimuli-Responsive Swelling Properties, and Their Radiation Decomposition. *Polymers* 2020, 12(5), 1112.
2. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Ivana Gajić, Vesna Nikolić, Ana Dinić, Vojkan Miljković. Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. *Antibiotics* 2022, 11(2), 135.
3. Ivana Gajić, Sanja Stojanović, Ivan Ristić, Snežana Ilić-Stojanović, Branka Pilić, Aleksandra Nešić, Stevo Najman, Ana Dinić, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić. Electrospun Poly(lactide) Fibers as Carriers for Controlled Release of Biochanin A. *Pharmaceutics* 2022, 14, 528.
4. Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ivana Gajić, Ana Dinić, Vojkan Miljković, Srđan Rakić, Sanja Đokić, Jelena Kesić, Snežana Ilić-Stojanović, Goran Nikolić. The Formulation of Curcumin:2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin Complex with Smart Hydrogel for Prolonged Release of Curcumin. *Pharmaceutics* 2023, 15, 382.
5. Ana Dinić, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Stevo Najman, Maja Urošević, Ivana Gajić. Modified sulfanilamide release from intelligent poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels. *Pharmaceutics* 2023, 15(6), 1749.

### Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. Vesna Nikolić, Ljubisa Nikolić, Ana Dinić, Ivana Gajić, Maja Urošević, Ljiljana Stanojević, Jelena Stanojević, Bojana Danilović. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Seed Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2021, 24(2), 218–227.
2. Ivana Gajić, Ana Dinić, Ljiljana Stanojević, Jelena Zvezdanović, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Savić. Osage orange (*Maclura pomifera* (Raf.) Schneid) fruit extracts: UHPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis, antioxidant activity and in vivo skin tests. *Natural Product Research* 2023.



### **Rad u međunarodnom časopisu (M23)**

1. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Aleksandar Zdravković, Vesna Nikolić. Synthesis and characterization of poly(N-isopropylmethacrylamide-co-N-isopropylacrylamide) copolymers. Hemijska Industrija 2020, 74(2), 103-117.

### **Rad u nacionalnom časopisu međunarodnog značaja (M24)**

1. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Vesna Nikolić, Sanja Petrović, Aleksandar Zdravković. Hydrogels based on *N*-isopropylmethacrylamide and *N*-isopropylacrylamide. Advanced technologies 2018, 7(1), 79-91.
2. Ljubiša Nikolić, Tijana Stojanović, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Snežana Ilić-Stojanović, Ana Tačić, Ivana Gajić, Vesna Savić, Aleksandar Zdravković. Synthesis and characterisation of hydrogels based on starch and citric acid. Advanced technologies 2020, 9(1), 50-57.

### **Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)**

1. Vojkan Miljković, Milica Nešić, Ivana Gajić, Maja Urošević, Jelena Mrmošanin, Milena Miljković. Determination of content and antioxidant capacity of natural food colors E160a and E160d in ketchup. Facta Universitatis: Physics, Chemistry and Technology 2021, 19(2), 91-98.

### **Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)**

1. Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Aleksandar Zdravković, Ivana Nikolić, Maja Urošević, Uticaj liofilizacije na ponašanje pri bubrenju pH i termoosetljivih hidrogelova, Zbornik Izvoda Radova, XII Savjetovanje Hemičara Tehnologa i Ekologa Republike Srpske, Banja Luka, 02.-03.11.2018., p 64, ISBN-978-99938-54-72-2.
2. Ana D. Dinić, Ivana Lj. Gajić, Ljiljana P. Stanojević, Vesna D. Nikolić, Jelena S. Stanojević, Maja Z. Urošević, Ljubiša B. Nikolić, Chemical composition and antimicrobial activity of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil, Book of Abstracts, 2nd International UNIfood Conference, Belgrade, 24-25. 9. 2021., p 91, ISBN-978-86-7522-066-4.

3. Ivana Lj. Gajić, Ana D. Dinić, Ljubiša B. Nikolić, Maja Z.Urošević, Dušica P. Ilić, Vesna Lj. Savić, Vesna D. Nikolić, Antimicrobial activity of allyl thiosulfinate (allicin), its inclusion complex with  $\beta$ -cyclodextrin and ajoenes and vinylidithiins derivatives, Book of Abstracts, 2nd International UNIfood Conference, Belgrade, 24-25. 9. 2021., p 126, ISBN-978-86-7522-066-4.
4. Natalija Tošić, Vesna Nikolić, Jelena Stanojević, Ljubiša Nikolić, Ana Dinić, Ivana Gajić, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis of the frankincense essential oil of *Boswellia Serrata*, Book of abstracts, 14th Symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, October, 22-23, 2021. BCHE - 15, p 61, ISBN-978-86-89429-44-2.
5. Ana Dinić, Ivana Gajić, Sanja Stojanović, Maja Urošević, Aleksandar Zdravković, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Morphological characteristics and antimicrobial activity of cyclodextrin inclusion complexes with sulfanilamide and biochanin A, Book of abstracts, 14th Symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, October, 22-23, 2021. PHCE - 12, p 78, ISBN-978-86-89429-44-2.
6. Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ivana Gajić, Ana Dinić, Snežana Ilić-Stojanović, Aleksandar Zdravković, Analysis of residual reactants of synthesized thermosensitive hydrogels, Book of abstracts, 14th Symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, October, 22-23, 2021. PE - 3, p 89, ISBN-978-86-89429-44-2.
7. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Ivana Gajić, Ana Dinić, Snežana Ilić-Stojanović, Vesna Savić, Influence of molar crosslinker ratio and ambient pH on swelling capacity of thermosensitive hydrogels, Book of abstracts, 14th Symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, October, 22-23, 2021. PE - 4, p 90, ISBN-978-86-89429-44-2.
8. Aleksandar Zdravković, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Ana Dinić, Ivana Gajić, Investigation of swelling reversibility and influence of lyophilization process on swelling of poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels, Book of abstracts, 14th Symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, October, 22-23, 2021. PE - 6, p 92, ISBN-978-86-89429-44-2.
9. Ana Dinić, Ivana Gajić, Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Goran Nikolić, Ljiljana Takić, Liposomes with Biochanin A – preparation, characterization and in vitro drug release, Book of Abstracts, 2nd International Conference on Advanced Production and Processing, Novi Sad, 20-22.10.2022., p 150, ISBN-978-86-6253-160-5.

10. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Ana Dinić, Ivana Gajić, Marijana Vladimirov, Natalija Tošić, Vesna Nikolić, Vojkan Miljković, The release of curcumin from thermo-sensitive copolymer, Book of Abstracts, 2nd International Conference on Advanced Production and Processing, Novi Sad, 20-22.10.2022., p 174, ISBN-978-86-6253-160-5.
11. Ivana Gajić, Ana Dinić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Ivan Ristić, Branka Pilić, Aleksandra Nešić, Vesna Savić, In vitro release of Biochanin A from electrospun (poly)lactide nanofibers, Book of Abstracts, 2nd International Conference on Advanced Production and Processing, Novi Sad, 20-22.10.2022., p 153, ISBN-978-86-6253-160-5.
12. Marijana Vladimirov, Ana Dinić, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Ivana Gajić, Ljubiša Nikolić, Vesna Savić, Inclusion complex of betulin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin: preparation, characterization and testing of phase solubility, Book of Abstracts, 2nd International Conference on Advanced Production and Processing, Novi Sad, 20-22.10.2022., p 178, ISBN-978-86-6253-160-5.
13. Marijana Vladimirov, Ana Dinić, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Ivana Gajić, Ljubiša Nikolić, Vojkan Miljković, preparation and characterization of betulinic acid inclusion complex with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, Book of Abstracts, 2nd International Conference on Advanced Production and Processing, Novi Sad, 20-22.10.2022., p 179, ISBN-978-86-6253-160-5.
14. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Ivana Gajić, Ana Dinić, Snežana Ilić-Stojanović, Marijana Vladimirov, Natalija Tošić, Vojkan Miljković, The influence of cross-linker on the swelling process of poly(N-isopropylmethacrylamide-co-N-isopropylacrylamide), Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 62, ISBN-978-99938-54-96-8.
15. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Ivana Gajić, Ana Dinić, Snežana Ilić-Stojanović, Marijana Vladimirov, Natalija Tošić, Vojkan Miljković, Characterization of synthesized thermosensitive hydrogels, Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 63, ISBN-978-99938-54-96-8.

16. Natalija Tošić, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Ljiljana Stanojević, Ivana Gajić, Maja Urošević, Ana Dinić, Marijana Vladimirov, Antioxidant activity of commercial and isolated essential oil of indian frankincense (*Boswellia serrata*), Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 64, ISBN-978-99938-54-96-8.
17. Natalija Tošić, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Jelena Stanojević, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Ana Dinić, Ivana Gajić, Comparative GC/MS analysis of commercial and isolated essential oil of indian frankincense (*Boswellia serrata*), Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 65, ISBN-978-99938-54-96-8.
18. Ivana Gajić, Ana Dinić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ivan Ristić, Aleksandra Nešić, Branka Pilić, Stevo Najman, Characterisation of the electrospun poly(lactide) nanofibers with Biochanin A, Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 66, ISBN-978-99938-54-96-8.
19. Ivana Gajić, Ana Dinić, Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Natalija Tošić, Marijana Vladimirov, Ivan Ristić, Ljiljana Stanojević, In vitro release of biochanin A from the electrospun poly(vinylpyrrolidone) nanofibers, Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 67, ISBN-978-99938-54-96-8.
20. Marijana Vladimirov, Vesna Nikolić, Ljiljana Stanojević, Ana Dinić, Maja Urošević, Ivana Gajić, Natalija Tošić, Ljubiša Nikolić, Antioxidant activity of betulin, betulinic acid and white birch bark extract (*Betula pendula*), Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 68, ISBN-978-99938-54-96-8.
21. Marijana Vladimirov, Vesna Nikolić, Jelena Stanojević, Ana Dinić, Maja Urošević, Ivana Gajić, Ljubiša Nikolić, GC-MS analysis of the white birch bark extract (*Betula pendula*), Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 69, ISBN-978-99938-54-96-8.
22. Snežana Ilić-Stojanović, Ljubiša Nikolić, Stevo Najman, Djordje Petrović, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Suzana Cakić, The influence of poly(N-isopropylmethacrylamide) hydrogels crosslinking on their swelling capacity, Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 71, ISBN-978-99938-54-96-8.

23. Snežana Ilić-Stojanović, Ljubiša Nikolić, Djordje Petrović, Jelena Stanojević, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Suzana Cakić, Decomposition of poly(N-isopropylmethacrylamide) homopolymer network, Book of Abstracts, XIV Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, Banja Luka, 21.-22.10.2022., p 72, ISBN-978-99938-54-96-8.
24. Ivana Gajić, Aleksandra Cvetanović Kljakić, Gökhan Zengin, Abdullahi Ibrahim Uba, Ana Dinić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Effect of the biochanin A complex with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on the inhibition of enzymes by molecular modeling, Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., PHCE-1, p 59, ISBN-978-86-89429-56-5.
25. Ana Dinić, Ivana Gajić, Ljiljana Stanojević, Aleksandra Cvetanović Kljakić, Gökhan Zengin, Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Enzyme inhibitory activity of biochanin A and its inclusion complex with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., PHCE-3, p 61, ISBN-978-86-89429-56-5.
26. Vesna Nikolić, Ana Dinić, Jelena Stanojević, Ljiljana Stanojević, Ivana Gajić, Maja Urošević, Natalija Tošić, Comparative chemical composition of isolated and commercial laurel leaf essential oil (*Laurus nobilis* L.), Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., OCT-7, p 73, ISBN-978-86-89429-56-5.
27. Natalija Tošić, Jelena Zvezdanović, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Ana Dinić, Ivana Gajić, Ljubiša Nikolić, Vesna Savić, Ultrasonic extraction of boswellic acids from frankincense resin (*Boswellia serrata*), Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., OCT-8, p 74, ISBN-978-86-89429-56-5.
28. Ivana Gajić, Ana Dinić, Aleksandra Cvetanović Kljakić, Gökhan Zengin, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Antioxidant activity of biochanin A and its inclusion complex with 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., OCT-12, p 78, ISBN-978-86-89429-56-5.

29. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Ana Dinić, Ivana Gajić, Vojkan Miljković, Aleksandar Zdravković, The influence of crosslinking agents, temperature and pH value of the medium on the swelling properties of poly(N-isopropylmethacrylamide-co-N-isopropylacrylamide) hydrogels, Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., PE-5, p 99, ISBN-978-86-89429-56-5.
30. Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ana Dinić, Ivana Gajić, Marijana Vladimirov, Ljiljana Takić, The synthesis and characterization of thermosensitive copolymer hydrogels poly(N-isopropylmethacrylamide-co-N-isopropylacrylamide), Book of abstracts, 15th Symposium „Novel technologies and sustainable development“, Leskovac, 20-21. October 2023., PE-6, p 100, ISBN-978-86-89429-56-5.

#### **Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)**

1. Maja Urošević, Aleksandar Zdravković, Snežana Ilić-Stojanović, Ljubiša Nikolić, Saša Savić, Sanja Petrović, Vesna Nikolić, Hydrogels based on *N*-isopropylacrylamide and methacrylic acid for the adsorption of manganese ions, Book of abstracts, 12<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 20.-21.10.2017., OCT-11, p 95, ISBN-978-86-89429-22-0.
2. Snežana Ilić-Stojanović, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Maja Urošević, Aleksandar Zdravković, Analysis of residual monomer content after synthesis of hydrogels based on *N*-isopropylmethacrylamide, Book of abstracts, 12<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 20.-21.10.2017., OCT-12, p 96, ISBN-978-86-89429-22-0.
3. Marijana Vladimirov, Vesna Nikolić, Ljiljana Stanojević, Jelena Stanojević, Ljubiša Nikolić, Ana Tačić, Maja Urošević, GC-MS Analysis of triterpenes from white birch bark (*Betula pendula*), Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., PHCE-5, p 69, ISBN-978-86-89429-35-0.
4. Ana Tačić, Ivana Nikolić, Maja Urošević, Marijana Vladimirov, Ljiljana Stanojević, Vesna Nikolić, Vesna Savić, Characterization and phase solubility study of benzocaine:2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex, Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., PHCE-6, p 70, ISBN-978-86-89429-35-0.

5. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Marijana Vladimirov, Ivana Nikolić, Ana Tačić, Aleksandar Zdravković, Structural characterization of synthesized copolymer hydrogels of poly(*N*-isopropylmethacrylamide-*co*-*N*-isopropylacrylamide) and analysis of residual reactants, Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., PE–8, p 114, ISBN-978-86-89429-35-0.
6. Maja Urošević , Ljubiša Nikolić , Ivana Nikolić , Nebojša Krunic , Milena Kostić , Stevo Najman, The influence of ph enviroment and temperature on swelling properties of poly(*N*-isopropylmethacrylamide-*co*-*N*-isopropylacrylamide) copolymer hydrogels, Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., PE–9, p 115, ISBN-978-86-89429-35-0.
7. Ljubiša Nikolić , Aleksandar Zdravković , Vesna Nikolić , Snežana Ilić-Stojanović , Enis Džunuzović , Suzana Cakić, Maja Urošević, The influence of environment parameters on swelling poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) hydrogels, Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., PE–10, p 116, ISBN-978-86-89429-35-0.
8. Aleksandar Zdravković, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Suzana Cakić, Enis Džunuzović, Maja Urošević, Application of poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) hydrogels for removal of chromium ions from aqueous solutions, Book of abstracts, 13<sup>th</sup> symposium „Novel technologies and economic development“, Leskovac, 18.-19. 10.2019., EE–7, p 147, ISBN-978-86-89429-35-0.

**Novo laboratorijsko postrojenje, novo eksperimentalno postrojenje, novi tehnološki postupak (uz dokaz) (M83)**

1. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Snežana Ilić-Stojanović, Vesna Nikolić, Sanja Petrović, Laboratorijski tehnološki postupak za sintezu hidrogelova poli(*N*-izopropilmetakrilamida-*ko*-*N*-izopropilakrilamida), Ev.br. 04-2315/1 od 18.12.2017. NIO realizator: Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet (recenzije: 04 br. 2361/1 i 06 br. 2362/1 od 21.12.2017. Tehnološki fakultet), Laboratorijski tehnološki postupak za sintezu hidrogelova poli(*N*-izopropilmetakrilamida-*ko*-*N*-izopropilakrilamida), 2017.

### **Prijavljen patent na nacionalnom nivou (M87)**

1. Ivana Gajić, Sanja Stojanović, Ivan Ristić, Snežana Ilić-Stojanović, Branka Pilić, Aleksandra Nešić, Stevo Najman, Ana Dinić, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Formulacije biohanina A sa elektrospinovanim nanovlaknima od polivinilpirolidona, P-2022/0968, priznati datum podnošenja prijave patenta 17.10.2022., Zavod za intelektualnu svojinu Republike Srbije, Beograd.

### **Objavljen patent na nacionalnom nivou (M93)**

1. Snežana Ilić-Stojanović, Aleksandar Zdravković, Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Termo- i pH- osetljivi hidrogelovi kao adsorbenti jona teških metala, RS-P-2019/0958 A2, datum prijave patenta 23.07.2019., Zavod za intelektualnu svojinu, Beograd, objava patenta (A2) 29.11.2019, Glasnik intelektualne svojine 11/2019.
2. Ivana Gajić, Snežana Ilić-Stojanović, Ana Dinić, Aleksandar Zdravković, Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Vesna Nikolić, Slobodan D. Petrović, Dušica Ilić, Formulacije Biohanina A sa pH- i termo-osetljivim kopolimerima", P-2021/0070 A1. datum podnošenja 20.01.2021., Zavod za intelektualnu svojinu Republike Srbije, objava patenta (A1) Glasnik intelektualne svojine 10/2021 od 29. okt. 2021.
3. Ivana Gajić, Sanja Stojanović, Ivan Ristić, Snežana Ilić-Stojanović, Branka Pilić, Aleksandra Nešić, Stevo Najman, Ana Dinić, Ljiljana Stanojević, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, "Formulacije elektrospinovanih nanovlakana od polilaktida sa fitoestrogenima za produženo oslobađanje", **P-2022/0130**, priznati datum podnošenja prijave patenta 09.02.2022., Zavod za intelektualnu svojinu Republike Srbije, Beograd, objava patenta (A2) Glasnik intelektualne svojine 06/2022 od 30. juna 2022.
4. Maja Urošević, Ljubiša Nikolić, Ivana Gajić, Vesna Nikolić, Ana Dinić, Snežana Ilić-Stojanović, Vojkan Miljković, Goran Nikolić, Suzana Cakić, "Formulacija matriks sistema sa kurkuminom", **P-2022/0287**, priznati datum podnošenja prijave patenta 17.03.2022., Zavod za intelektualnu svojinu Republike Srbije, Beograd, objava patenta (A1) Glasnik intelektualne svojine 07/2022 od 29. jula 2022.

### **Registrovani patent na nacionalnom nivou (M92)**

1. Aleksandar Zdravković, Snežana Ilić-Stojanović, Ljubiša Nikolić, Maja Urošević, Vesna Nikolić, Postupak sinteze termo- i pH- osetljivih kopolimernih hidrogelova" RS-P-2019/0959 A2, datum prijave 23.07.2019., Zavod za intelektualnu svojinu, Beograd, objava patenta (A2) 29.11.2019, Glasnik intelektualne svojine 11/2019. Rešenje o priznanju patenta 990 broj 2021/13467-P-2019/0959 od 05.11.2021. Patent broj RS 62 513 B1.





---

## ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**Синтеза и карактеризација кополимерних хидрогелова на бази *N*-  
изопропилметакриламида и *N*-изопропилакриламида за формулације  
са куркумином**

која је одбрањена на Технолошком факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио ауторска права, нити злоупотребио интелектуалну својину других лица

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 16. септембар 2024. год.

Потпис аутора дисертације:

---

Маја 3. Урошевић



---

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ  
ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**Синтеза и карактеризација кополимерних хидрогелова на бази *N*-  
изопропилметакриламида и *N*-изопропилакриламида за формулације  
са куркумином**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам  
предао за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан  
штампаном облику

У Нишу, 16. септембар 2024. год.

Потпис аутора дисертације:

---

Маја З. Урошевић



---

## ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

**Синтеза и карактеризација кополимерних хидрогелова на бази *N*-изопропилметакриламида и *N*-изопропилакриламида за формулације са куркумином**

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делили под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делили под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, 16. септембар 2024. год.

Потпис аутора дисертације:

---

Маја З. Урошевић