

## ΘΕΡΜΟ-ΑΠΟΚΡΙΝΟΜΕΝΕΣ ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΩΝ ΣΥΜΠΟΛΥΜΕΡΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΦΥΣΙΚΟ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΗ ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ

**Z. Ιατρίδη, Ν.Π. Κούλη, Κ. Τσιτσιλιάνης\***

Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πάτρας, Πάτρα, Ελλάδα

(\*[ct@chemeng.upatras.gr](mailto:ct@chemeng.upatras.gr))

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν υδροπηκτώματα από εμβολιασμένα συμπολυμερή αποτελούμενα από έναν κεντρικό σκελετό αλγινικού νατρίου (ALG) και θερμοευαίσθητες πλευρικές αλυσίδες του ομοπολυμερούς πολυ(N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο) (PNIPAM) ή συμπολυμερούς αυτού με το υδρόφοβο μονομερές N-τεταρτοταγές-βουτυλο-ακρυλαμίδιο (NtBAM) και διερευνήθηκε η θερμοαποκρισιμότητά τους μέσω της τεχνικής της ρεολογίας. Τα πολυμερή αυτά σχηματίζουν τρισδιάστατο δίκτυο στο νερό (υδροπήκτωμα) σε θερμοκρασίες υψηλότερες μιας κρίσιμης θερμοκρασίας, εξαιτίας της υδρόφοβης οργάνωσης των θερμοαποκρισιμων πλευρικών αλυσίδων. Η θερμοαποκρισιμότητα (κρίσιμη θερμοκρασία σχηματισμού πηκτώματος) και οι ρεολογικές ιδιότητες των υδροπηκτωμάτων αυτών εξαρτώνται από παράγοντες όπως η συγκέντρωση του δείγματος, ο ρυθμός ψύξης-θέρμανσης, ο βαθμός εμβολιασμού και η παρουσία υδρόφοβων μονομερών στις πλευρικές αλυσίδες. Στο ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) ο συνδυασμός της θερμοκρασιακής και διατμητικής απόκρισης προσφέρουν στο υδροπήκτωμα πολύ καλές ιδιότητες ενεσιμότητας, καθιστώντας το υποψήφιο σύστημα για εφαρμογές μεταφοράς φαρμακευτικών παραγόντων και κυττάρων σε ενδεχόμενες εφαρμογές στην τεχνολογία ανάκτησης ιστών.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα υδροπηκτώματα των φυσικών πολυσακχαριτών σημειώνουν μεγάλο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα καθώς μοιάζουν με τα συστατικά που υπάρχουν στον εξωκυττάριο χώρο των οργανισμών. Έτσι, βρίσκουν χρήση στο χώρο της βιοϊατρικής σε εφαρμογές που αφορούν σε αποκατάσταση ιστών και λειτουργική αναγέννηση, μηχανική ιστών και απελευθέρωση φαρμάκων [1]. Μια ακόμα σημαντική κατηγορία υδροπηκτωμάτων είναι τα “έξυπνα” πηκτώματα δηλαδή δίκτυα πολυμερών που αποκρίνονται σε εξωτερικά φυσικά ερεθίσματα (pH, θερμοκρασία, ιοντική ισχύς κ.α.) [2]. Το αλγινικό νάτριο (ALG) είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από συστάδες γουλουρονικού και μαννουρονικού οξέος. Η βιοσυμβατότητα και μη τοξικότητα των υδροπηκτωμάτων του ALG τα καθιστά ενδιαφέροντα υλικά για εφαρμογές όπως μεταφορά φαρμάκων, καλλιέργεια και μεταφορά κυττάρων, ανάπλαση ιστών [3]. Η εισαγωγή θερμοευαίσθητων ομάδων στο ALG μπορεί να οδηγήσει σε “έξυπνα” συστήματα με θερμοαποκρινόμενη συμπεριφορά μετάβασης από διάλυμα σε πήκτωμα. Υπάρχει πληθώρα ερευνητικών εργασιών που αναφέρονται στη μελέτη της θερμοαπόκρισης εμβολιασμένων συμπολυμερών ALG και του θερμοευαίσθητου πολυμερούς PNIPAM [4-6]. Σε προηγούμενη δουλειά, δημοσιεύθηκε η σύνθεση και πρωταρχικά αποτελέσματα της ρεολογικής μελέτης εμβολιασμένων πολυμερών ALG με πλευρικές αλυσίδες PNIPAM διαφόρων μοριακών βαρών και με πλευρικές αλυσίδες που αποτελούσαν συμπολυμερές του NIPAM με το υδρόφοβο μονομερές N-τεταρτοταγές-βουτυλο-ακρυλαμίδιο (NtBAM) [7]. Σε υψηλές συγκεντρώσεις όλα τα συμπολυμερή σχημάτισαν υδροπηκτώματα. Η εισαγωγή του NtBAM στις πλευρικές αλυσίδες οδήγησε σε μετατόπιση της θερμοκρασίας μετάβασης από διάλυμα σε πήκτωμα σε χαμηλότερες τιμές και επιπλέον βελτίωσε τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του υδροπηκτώματος. Στην παρούσα έρευνα παρουσιάζεται η σύνθεση και η μελέτη της θερμοαποκρινόμενης ρεολογικής συμπεριφοράς υδροπηκτωμάτων εμβολιασμένων συμπολυμερών ALG με πλευρικές αλυσίδες PNIPAM ή P(NIPAM-co-NtBAM). Θα διερευνηθεί η εξάρτηση της θερμοαποκρισιμότητας (κρίσιμη

θερμοκρασία σχηματισμού πηκτώματος) και των ρεολογικών ιδιοτήτων των υδροπηκτωμάτων αυτών από παράγοντες όπως η συγκέντρωση του δείγματος, ο ρυθμός ψύξης-θέρμανσης, ο βαθμός εμβολιασμού, η εισαγωγή υδρόφοβων μονομερών στις πλευρικές αλυσίδες. Απώτερος στόχος είναι ο σχηματισμός πηκτωμάτων με ρεολογικές ιδιότητες που αποκρίνονται στην θερμοκρασία αλλά και στην διάτμηση ώστε να πληρούν τις προϋποθέσεις για τη χρήση τους ως ενέσιμα υδροπηκτώματα: ασθενές υδροπήκτωμα σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να μεταφέρονται ασφαλώς τα βλαστοκύτταρα κατά την ένεση στον ασθενή και ένα ισχυρό υδροπήκτωμα μετά την ένεση στη φυσιολογική θερμοκρασία 37 °C, ώστε να ακινητοποιείται το σχηματισμένο ικρίωμα στην επιθυμητή θέση-στόχο του ιστού και να επιτρέπει την μεταμόσχευση των κυττάρων.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι αμινοδραστικοποιημένες πλευρικές αλυσίδες PNIPAM-NH<sub>2</sub> και P(NIPAM-co-NtBAM)-NH<sub>2</sub> συντέθηκαν μέσω πολυμερισμού ελευθέρων ριζών ενώ ο εμβολιασμός τους στον κεντρικό σκελετό του ALG πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας χημεία καρβοδιϊμιδίου κατά την οποία σχηματίζεται αμιδικός δεσμός μεταξύ των ομάδων -COO<sup>-</sup> του ALG και των ομάδων -NH<sub>2</sub> των πλευρικών αλυσίδων [7]. Τα αποτελέσματα χαρακτηρισμού των πολυμερών δίνονται στον **Πίνακα 1**. Από τη μελέτη θολομετρίας (μελέτη μεταβολής της οπτικής πυκνότητας στα 500nm με την θερμοκρασία μέσω φασματοφωτομετρίας UV-Vis) των πλευρικών αλυσίδων υπολογίστηκε η θερμοκρασία θολώματος (cloud point, T<sub>cp</sub>) που ορίζεται ως η θερμοκρασία πάνω από την οποία παρατηρείται θόλωμα, επιδεικνύοντας την μείωση της διαπερατότητας (PNIPAM-NH<sub>2</sub>: T<sub>cp</sub>=32°C, P(NIPAM-co-NtBAM)-NH<sub>2</sub>: T<sub>cp</sub>=25°C). Από την σύσταση των βαρών των μονάδων ALG και πλευρικών αλυσίδων προκύπτει πως το πολυμερές ALG-g-PNIPAM έχει βαθμό εμβολιασμού 3 (δηλαδή 3 πλευρικές αλυσίδες ανά αλυσίδα ALG) ενώ το ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) έχει πολύ μεγαλύτερο βαθμό εμβολιασμού 86 (86 πλευρικές αλυσίδες ανά αλυσίδα ALG).

**Πίνακας 1.** Χαρακτηρισμός των πολυμερών.

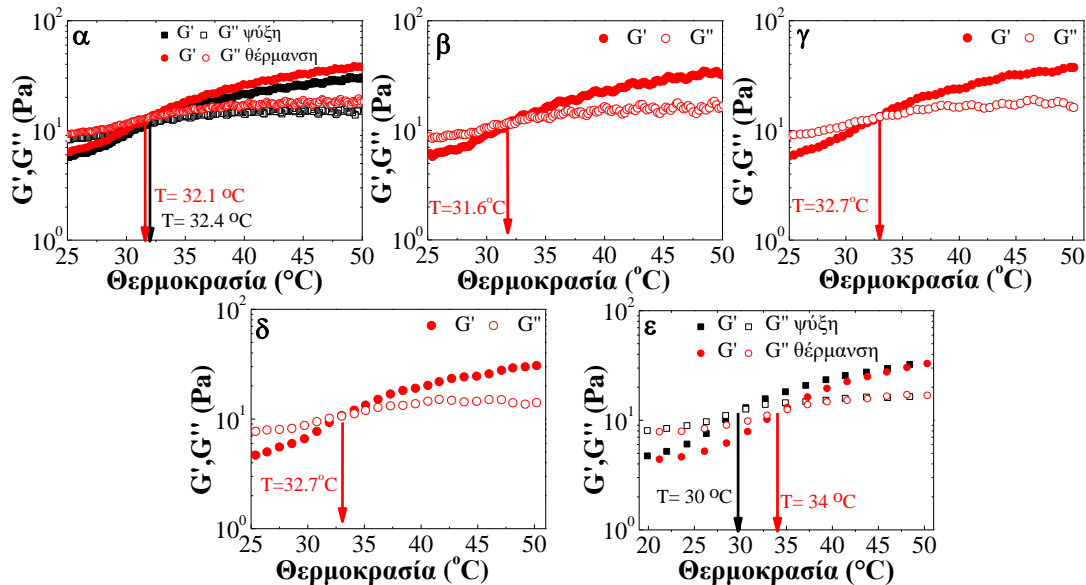
Πολυμερές	M <sub>n</sub> <sup>α</sup> (g/mol)	M <sub>n</sub> <sup>β</sup> (g/mol)	λόγος M/G <sup>γ</sup>	λόγος NIPAM/NtBAM (mol/mol) <sup>γ</sup>	Σύσταση βαρών ALG/πλευρ. αλυσίδα (wt/wt) <sup>γ</sup>	Βαθμός εμβολιασμού πλευρ. αλυσίδα/ALG (mol/mol) <sup>γ</sup>
ALG	140000	-	1.5	-	-	-
P(NIPAM)-NH <sub>2</sub>	-	22700	-	-	-	-
P(NIPAM-co-NtBAM)-NH <sub>2</sub>	-	12700	-	90.0/10.0	-	-
ALG-g-P(NIPAM)	-	-	-	-	68.6/31.4	3
ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM)	-	-	-	90.0/10.0	11.4/88.6	86

<sup>α</sup> από ιξωδομετρία; <sup>β</sup> από τιτλοδότηση οξέος-βάσεως; <sup>γ</sup> από <sup>1</sup>H-NMR.

Οι ρεολογικές ιδιότητες των εμβολιασμένων συμπολυμερών πραγματοποιήθηκαν μέσω ενός ρεομέτρου σταθερής τάσης. Για τη ρεολογία παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα των συμπολυμερών σε διάφορες συγκεντρώσεις και το pH τους ρυθμίζεται σε pH 7.4, με χρήση NaOH 1M. Τα πειράματα ρεολογίας πραγματοποιήθηκαν στην γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή.

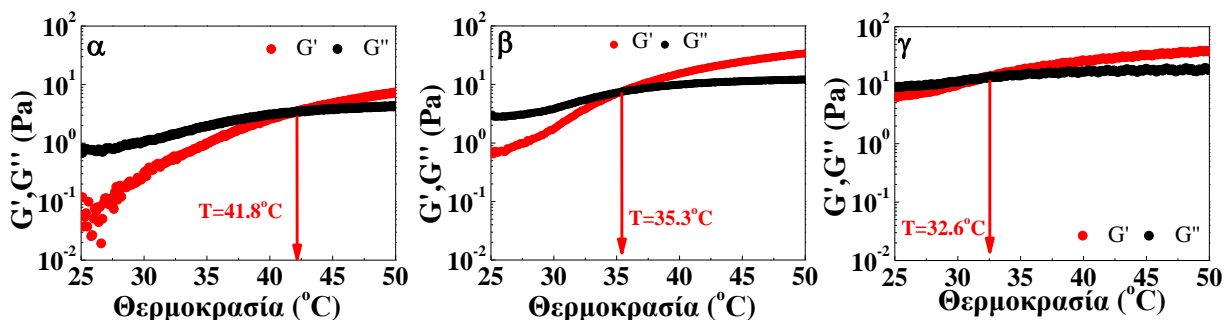
Αρχικά πραγματοποιήθηκαν διατμητικά δυναμικά πειράματα με μεταβολή της θερμοκρασίας ώστε να εκτιμηθεί η συμπεριφορά θερμοπάχυνσης των πολυμερών και να εντοπιστεί η θερμοκρασία μετάβασης από διάλυμα σε πήκτωμα (T<sub>gel</sub>). Στο **Σχήμα 1** παρουσιάζονται τα μέτρα αποθήκευσης, G', και απωλειών, G'', ενός υδατικού διαλύματος 10.0 wt% του πολυμερούς ALG-g-PNIPAM, για διάφορους ρυθμούς ψύξης ή/και θέρμανσης που κυμαίνονται από 0.5 έως 10.0 °C/min. Από όλα τα διαγράμματα σε ρυθμούς θέρμανσης 0.5-5°C/min (Σχήμα 1α-δ, κόκκινο χρώμα), παρατηρείται μια κρίσιμη θερμοκρασία περίπου μεταξύ 31.6-32.7 °C (θερμοκρασία όπου G'=G'') η οποία ονομάζεται κρίσιμη θερμοκρασία σχηματισμού πηκτώματος (T<sub>gel</sub>). Πάνω από την T<sub>gel</sub> το G' υπερσχύει του G'', υποδηλώνοντας την μετάβαση από διάλυμα σε

πήκτωμα. Η αύξηση του  $G'$  υποδηλώνει υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις των θερμοευαίσθητων πλευρικών αλυσίδων και κατά επέκταση την ικανότητα θερμοπάχυνσης του υπό μελέτη πολυμερούς. Όταν ο ρυθμός θέρμανσης είναι πολύ γρήγορος ( $10.0\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , Σχήμα 1ε), παρατηρείται πως η Tgel εντοπίζεται στους  $34^\circ\text{C}$ , παρουσιάζει δηλαδή μια υστέρηση σε σχέση με τους μικρότερους ρυθμούς θέρμανσης. Στα Σχήματα 1α και 1ε δίνονται επίσης με μαύρο χρώμα τα αποτελέσματα για τον αντίστοιχο ρυθμό αλλά κατά την ψύξη. Για τον αργό ρυθμό  $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$  (Σχήμα 1α), το σύστημα επέδειξε πολύ καλή αντιστρεπτότητα του φαινομένου στον κύκλο ψύξη/θέρμανση. Αντίθετα, σε γρήγορο ρυθμό όπως  $10.0^\circ\text{C}/\text{min}$  (Σχήμα 1ε), παρατηρήθηκε υστέρηση στην τιμή της Tgel κατά  $4^\circ\text{C}$  που αποδίδεται στην σχετική καθυστέρηση ανάκτησης το δικτύου.

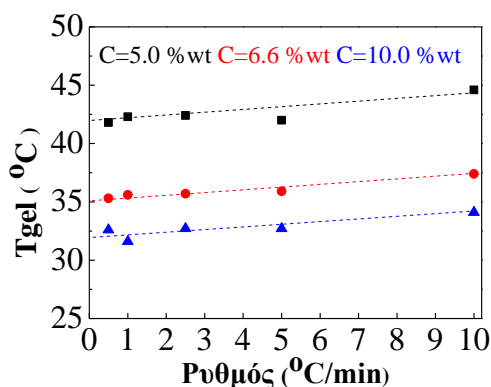


**Σχήμα 1.** Μέτρα αποθήκευσης  $G'$  (κλειστά σύμβολα) και απωλειών  $G''$  (ανοιχτά σύμβολα) συναρτήσει της θερμοκρασίας για υδατικό διάλυμα πολυμερούς ALG-g-PNIPAM 10.0 wt% σε pH 7.4, σε διαφορετικούς ρυθμούς θέρμανσης: α)  $0.5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , β)  $1.0\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , γ)  $2.5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ , δ)  $5.0\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  και ε)  $10.0\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . (παραμόρφωση=1%, συχνότητα=1rad/s).

Στο **Σχήμα 2**, δίνεται η θερμοκρασιακή μεταβολή των  $G'$  και  $G''$  υδατικών διαλυμάτων του πολυμερούς ALG-g-PNIPAM σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις (5.0, 6.6 και 10.0 wt%) σε ρυθμό θέρμανσης  $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ . Παρατηρείται πως οι τιμές των μέτρων  $G'$  και  $G''$  αυξάνουν σημαντικά με την αύξηση της συγκέντρωσης του πολυμερούς, ενώ ταυτόχρονα η Tgel εντοπίζεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες όσο αυξάνεται η συγκέντρωση (η Tgel μειώθηκε κατά  $\sim 9^\circ\text{C}$  κατά την αύξηση της συγκέντρωσης από 5.0 σε 10.0 wt%). Το φαινόμενο αυτό εξηγείται ως εξής: η αύξηση της συγκέντρωσης σημαίνει και αύξηση των πολυμερικών αλυσίδων μέσα στο διάλυμα και άρα αύξηση του αριθμού των θερμοευαίσθητων αλυσίδων που γεφυρώνουν το πολυμερικό δίκτυο.



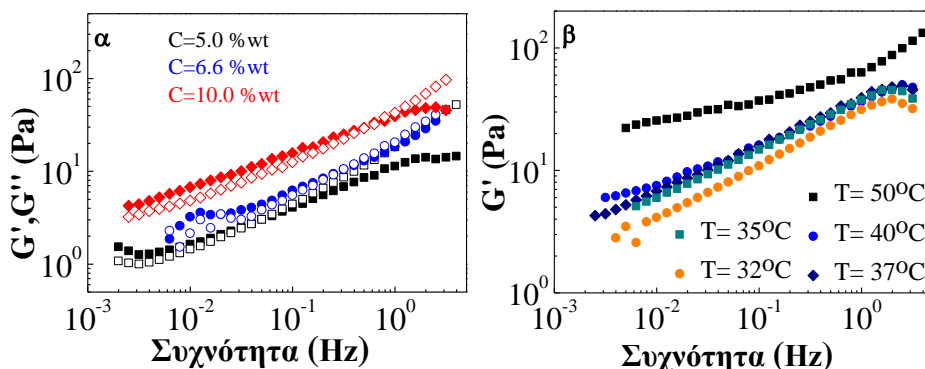
**Σχήμα 2.** Μέτρα αποθήκευσης  $G'$  (κόκκινο) και απωλειών  $G''$  (μαύρο) συναρτήσει της θερμοκρασίας σε ρυθμό θέρμανσης  $0.5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  για υδατικά διαλύματα πολυμερούς ALG-g-PNIPAM σε pH 7.4 και συγκεντρώσεις α) 5.0 wt%, β) 6.6 wt% και γ) 10.0 wt%. (παραμόρφωση=1%, συχνότητα=1rad/s).



**Σχήμα 3.** Επίδραση του ρυθμού θέρμανσης στην θερμοκρασία σχηματισμού πηκτώματος ( $T_{gel}$ ) για υδατικά διαλύματα πολυμερούς ALG-g-PNIPAM συγκεντρώσεων 5.0 wt%, 6.6 wt% και 10.0 wt% σε pH 7.4.

Στο **Σχήμα 3** φαίνεται η επίδραση τόσο του ρυθμού θέρμανσης αλλά και της συγκέντρωσης πολυμερούς στην τιμή της  $T_{gel}$ . Είναι εμφανές πως η  $T_{gel}$  εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την συγκέντρωση του δείγματος ενώ τείνει να αυξάνει ελαφρώς με τον ρυθμό θέρμανσης. Παρατηρήθηκε επίσης ότι στον υψηλότερο ρυθμό θέρμανσης (10.0°C/min) το σύστημα εμφανίζει σχετική υστέρηση στον κύκλο ψύξη/θέρμανση.

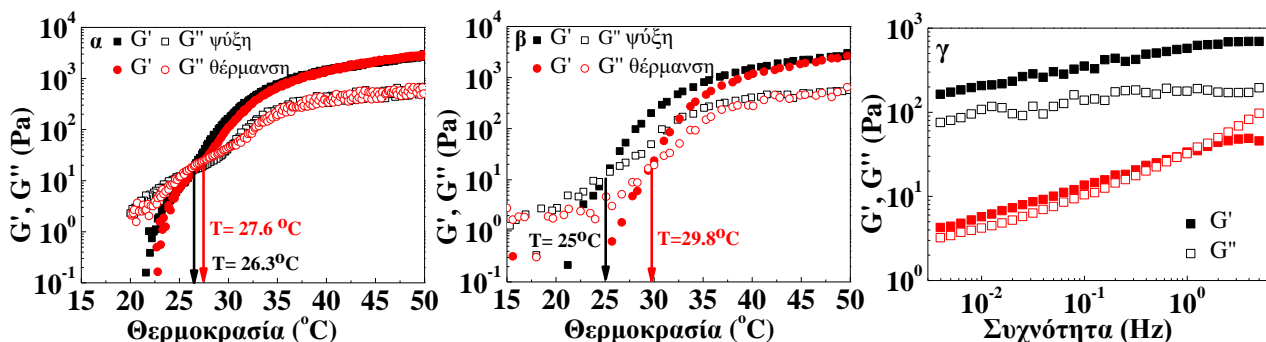
Η επίδραση της θερμοκρασίας στην μηχανική απόκριση του συστήματος μελετήθηκε στην γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή μέσω δυναμικών μετρήσεων σε σταθερή θερμοκρασία (**Σχήμα 4**). Στο Σχήμα 4α όπου δίνεται η μεταβολή των μέτρων  $G'$  και  $G''$  συναρτήσει της συχνότητας σε σταθερή θερμοκρασία  $T=37^\circ\text{C}$  για το πολυμερές ALG-g-PNIPAM σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις, παρατηρείται πως στο πιο πυκνό διάλυμα σχηματίζεται ένα ασθενές πήκτωμα σχεδόν σε όλο το εύρος των υπό μελέτη συχνοτήτων καθώς το  $G'$  είναι μεγαλύτερο του  $G''$ . Στο Σχήμα 4β δίνεται η μεταβολή του μέτρου αποθήκευσης,  $G'$ , συναρτήσει της συχνότητας, υδατικού διαλύματος 10.0 wt% του πολυμερούς ALG-g-PNIPAM, για διάφορες θερμοκρασίες από 32 έως 50°C. Όσο αυξάνει η θερμοκρασία, αυξάνει και το μέτρο  $G'$ , υποδηλώνοντας το σχηματισμό πιο ισχυρού πηκτώματος σε υψηλές θερμοκρασίες.



**Σχήμα 4.** α) Μέτρα αποθήκευσης  $G'$  (κλειστά σύμβολα) και απωλειών  $G''$  (ανοιχτά σύμβολα) στους 37°C, συναρτήσει της συχνότητας για υδατικά διαλύματα πολυμερούς ALG-g-PNIPAM σε pH 7.4 και συγκεντρώσεις 5.0, 6.6 και 10.0 wt%; β) Μέτρο αποθήκευσης  $G'$  συναρτήσει της συχνότητας για υδατικό διάλυμα πολυμερούς ALG-g-PNIPAM 10.0 wt% σε pH 7.4, σε διάφορες θερμοκρασίες.

Σε επόμενο στάδιο διεξάχθηκε η ρεολογική μελέτη του εμβολιασμένου συμπολυμερούς ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) όπου οι πλευρικές αλυσίδες είναι εμπλουτισμένες κατά 10% (mol) από το υδρόφοβο μονομερές NtBAM και επιπλέον ο κεντρικός σκελετός του ALG είναι εμβολιασμένος με μεγάλο αριθμό πλευρικών αλυσίδων (βαθμός εμβολιασμού=86) σε σχέση με το ALG-g-PNIPAM (βαθμός εμβολιασμού=3). Στο **Σχήμα 5** παρουσιάζεται η μεταβολή των μέτρων  $G'$  και  $G''$  συναρτήσει της θερμοκρασίας για ένα υδατικό διάλυμα ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) συγκέντρωσης 10.0 wt%. Από το σχήμα αυτό φαίνεται πως το  $G'$  αυξάνεται κατά πολύ μεγάλο ποσοστό κατά τη

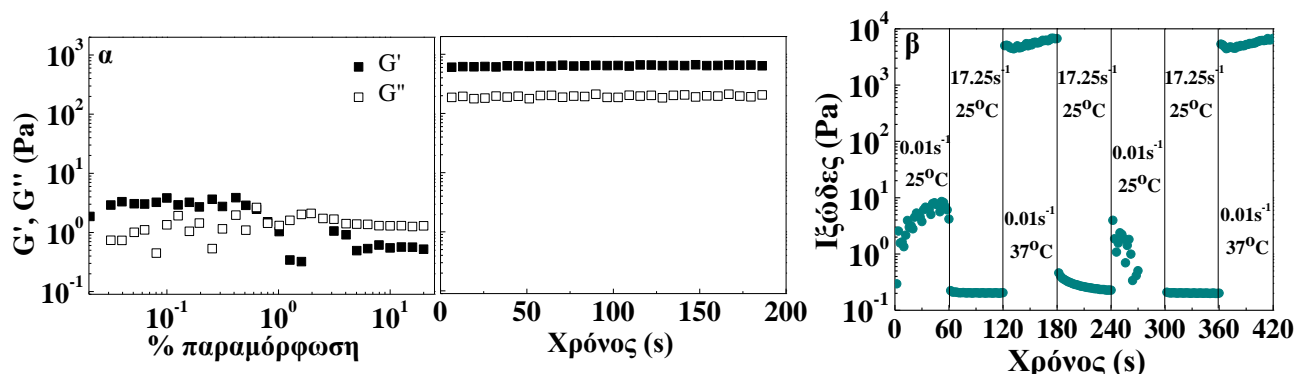
θέρμανση. Πιο συγκεκριμένα κατά το θερμοκρασιακό εύρος 20-50°C, η τιμή του αυξάνει μέχρι και περίπου 4 τάξεις μεγέθους, σχηματίζοντας ένα ισχυρό πήκτωμα σε θερμοκρασίες πάνω από την Tgel. Στα Σχήματα 5α και 5β δίνεται η μεταβολή των  $G'$ ,  $G''$  για τα βήματα ψύξης αλλά και θέρμανσης με ρυθμό 1.0 °C/min και 5.0 °C/min, αντίστοιχα. Στην πρώτη περίπτωση (Σχήμα 5α), το σύστημα δείχνει να έχει αντιστρεπτή συμπεριφορά κατά την ψύξη και θέρμανση, καθώς δεν παρατηρείται υστέρηση στην μεταβολή των μέτρων  $G'$  και  $G''$ . Επίσης η Tgel κατά την ψύξη και την θέρμανση εμφανίζει μια μικρή υστέρηση της τάξης του ~1°C. Σε μεγαλύτερο ρυθμό ψύξης/θέρμανσης (5.0 °C/min, Σχήμα 5β), το σύστημα εμφανίζει υστέρηση σε μεγάλο βαθμό. Η Tgel κατά την ψύξη και την θέρμανση διαφέρει κατά ~5°C, γεγονός που υποδηλώνει την αδυναμία του συστήματος να αποκριθεί ακαριαία όταν η αλλαγή της θερμοκρασίας γίνεται σε μεγάλο ρυθμό. Στο Σχήμα 5γ όπου δίνεται η μεταβολή των  $G'$  και  $G''$  με την συχνότητα σε θερμοκρασία 37°C για τα δυο συμπολυμερή με το διαφορετικό είδος πλευρικών αλυσίδων και βαθμό εμβολιασμού παρατηρείται πως το ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) έχει σχηματίσει ένα ισχυρό πήκτωμα καθώς το  $G'$  έχει υψηλή τιμή και σε όλο το εύρος συχνοτήτων υπερτερεί του  $G''$ . Μάλιστα, συγκρίνοντας τις τιμές του  $G'$  για τα δυο πολυμερή ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) και ALG-g-PNIPAM στους 37°C σε 1Hz, το ALG-g-PNIPAM έχει τιμή  $G'$  30 Pa ενώ το ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) έχει τιμή  $G'$  600 Pa (περίπου 20 φορές μεγαλύτερη τιμή από αυτή του ALG-g-PNIPAM).



**Σχήμα 5.** Μέτρα αποθήκευσης  $G'$  (κλειστά σύμβολα) και απωλειών  $G''$  (ανοιχτά σύμβολα) συναρτήσει της θερμοκρασίας για υδατικό διάλυμα πολυμερούς ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) 10.0 wt% σε pH 7.4, σε διαφορετικούς ρυθμούς θέρμανσης: α) 1.0 °C/min και β) 5.0 °C/min. (παραμόρφωση=1%, συχνότητα=1Hz). γ)  $G'$  (κλειστά σύμβολα) και  $G''$  (ανοιχτά σύμβολα) στους 37°C συναρτήσει της συχνότητας για διάλυμα πολυμερούς ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) (μαύρο) ή ALG-g-PNIPAM (κόκκινο) 10.0 wt% σε pH 7.4.

Προκειμένου να εξεταστεί η ενεσιμότητα και η αντιστρεπτότητα του ισχυρότερου πηκτώματος που σχηματίζει το ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα πειράματα (Σχήμα 6). Αρχικά, η ανάκτηση του πηκτώματος μετά από την διάσπασή του μέσω διάτμησης διερευνήθηκε σχεδιάζοντας δυο διαδοχικά πειράματα (Σχήμα 6α). Το ιξώδες διάλυμα του πολυμερούς υποβλήθηκε σε σάρωση παραμόρφωσης στους 25 °C (θερμοκρασία ένεσης) σε τιμές παραμόρφωσης πέρα από την γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή (διάσπαση του δικτύου) και ακολούθησε χρονική σάρωση στους 37 °C (θερμοκρασία σώματος) εντός της γραμμικής ιξωδοελαστικής περιοχής (0.1% παραμόρφωση). Το ρεολογικό προφίλ στους 25 °C και σε ψηλές τιμές παραμόρφωσης, δείχνει  $G' < G''$  (sol) και ακαριαία ανάκτηση,  $G' > G''$  (gel), στη γραμμική περιοχή στους 37 °C. Επίσης πραγματοποιήθηκαν πειράματα μεταβολής του διατμητικού ιξώδους με το χρόνο, σε συνθήκες που προσομοιάζουν την ένεση με σύριγγα και βελόνα 28-gauge. Στο Σχήμα 6β παρουσιάζεται η χρονική εξάρτηση του ιξώδους σε διαφορετικούς ρυθμούς διάτμησης και θερμοκρασίες. Είναι ορατή μια σημαντική ρεολόγηση όταν ο ρυθμός διάτμησης μεταβλήθηκε από 0.01 s<sup>-1</sup> σε 17.25 s<sup>-1</sup> (θεωρώντας ροή με ρυθμό 1000 μL/min διαμέσου μιας βελόνας με εσωτερική ακτίνα 0.0925 mm), κατά την ένεση στους 25 °C. Όταν η θερμοκρασία αυξάνεται στους 37 °C, το ιξώδες αμέσως αυξάνεται κατά ~4-5 τάξεις μεγέθους σε σχεδόν μηδενικό ρυθμό διάτμησης 0.01 s<sup>-1</sup>. Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στο συνδυασμό της αποκρισιμότητας

του συστήματος τόσο στη θερμοκρασία αλλά και στη διάτμηση. Επιπλέον, φαίνεται πως ο παραπάνω κύκλος επαναλαμβάνεται άρα η διαδικασία έγχυσης είναι αντιστρεπτή και επαναλήψιμη, καθιστώντας το σύστημα υποσχόμενο υποψήφιο ως ενέσιμο πήκτωμα. Μετά την απότομη μείωση της παραμόρφωσης και την αύξηση της θερμοκρασίας στους 37 °C, σχηματίστηκε πήκτωμα καθώς το G' γίνεται πολύ υψηλότερο από το G''.



**Σχήμα 6.** α) Μέτρα αποθήκευσης  $G'$  (κλειστά σύμβολα) και απωλειών  $G''$  (ανοιχτά σύμβολα) στους 25°C σε 1Hz, συναρτήσει της παραμόρφωσης, και ακολούθως στους 37°C σε 1Hz και παραμόρφωση 0.1%, συναρτήσει του χρόνου; β) Διατμητικό ιξώδες συναρτήσει του χρόνου για διάφορους ρυθμούς διάτμησης 0.01 s<sup>-1</sup> (25 °C), 17.25 s<sup>-1</sup> (25 °C), και 0.01 s<sup>-1</sup> (37 °C), για υδατικό διάλυμα πολυμερούς ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) 10.0 wt% σε pH 7.4.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν εμβολιασμένα συμπολυμερή ALG-g-PNIPAM και ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) τα οποία σχηματίζουν τρισδιάστατο δίκτυο (υδροπήκτωμα) σε θερμοκρασίες υψηλότερες από μία κρίσιμη θερμοκρασία  $T_{gel}$ , εξαιτίας της υδρόφοβης οργάνωσης των θερμοαποκρίσιμων πλευρικών αλυσίδων. Η ρεολογική συμπεριφορά τους κατέδειξε ότι η θερμοαποκρυσιμότητά τους και κατ' επέκταση οι ιδιότητές τους ως ενέσιμα υδροπηκτώματα μπορούν να ρυθμιστούν με διάφορους παράγοντες όπως η συγκέντρωση του δείγματος, ο βαθμός εμβολιασμού, και η εισαγωγή υδρόφοβων μονομερών στις πλευρικές αλυσίδες. Το υδροπήκτωμα ALG-g-P(NIPAM-co-NtBAM) εμφανίζει καλύτερες ιδιότητες έναντι του ALG-g-PNIPAM, ήτοι χαμηλή  $T_{gel}$  και υψηλή τιμή στο  $G'=600$  Pa στους 37 °C. Ο συνδυασμός της θερμοκρασιακής και διατμητικής απόκρισης προσφέρουν στο υδροπήκτωμα αυτό πολύ καλές ιδιότητες ενεσιμότητας, καθιστώντας το υποψήφιο σύστημα για εφαρμογές μεταφοράς φαρμακευτικών παραγόντων και κυττάρων στην τεχνολογία ιστών.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Το έργο συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση Μεταδιδακτόρων ερευνητών/ερευνητριών» (MIS-5001552), που υλοποιεί το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ).



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] J. Liun, S. Willfor, C. Xun. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 5 (2015) 31–61.
- [2] C. Tsitsilianis. Soft Matter 6 (2010) 2372-2388.
- [3] A.D. Augst, H.J. Kong, D.J. Mooney. Macromol. Biosci. 6 (2006) 623–633.
- [4] M.M. Soledad Lencina, A.E. Ciolino, N.A. Andreucetti, M.A. Villar. Eur. Polym. J. 68 (2015) 641–649.
- [5] M. Liu, X. Song, Y. Wen, J.-L. Zhu, J. Li. ACS Appl. Mater. Inter. 9 (41) (2017) 35673-35682.
- [6] H. Guo, M. de Magalhaes Goncalves, G. Ducouret, D. Hourdet. Biomacromolecules 19 (2) (2018) 576-587.
- [7] M.M. Soledad Lencina, Z. Iatridi, M.A. Villar, C. Tsitsilianis. Eur. Polym. J. 61 (2014) 33–44.