

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Tonko Čipčić

**UTJECAJ KOLIČINE ANTIBIOTIKA NA SVOJSTVA ELEKTROISPREDENOG
POLIKAPROLAKTONA KAO PODLOGE ZA KONTROLIRANU TERAPIJU OKA**

Zagreb, 2017.

Ovaj rad je izrađen u Zavodu za temeljne prirodne i tehničke znanosti, pod vodstvom red. prof. dr. sc. Budimira Mijovića i neposrednoj voditeljici dr. sc. Emilije Zdraveve i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2016./2017.

Tema rada dio je područja istraživanja koje se provodi u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta „Ciljana izrada prototipa vlaknastog nosača za uzgoj tkivnih stanica kombiniranim elektroispredanjem - COMBOELECTROSPUN“, IP-2016-06-6878, financiran od Hrvatske zaklade za znanost.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Opći i specifični ciljevi rada	2
2. O TEHNOLOGIJI ELEKTROISPREDANJA	2
2.1. Postupak elektroispredanja	4
2.1.1. Polimeri koji se koriste u elektroispredanju	5
2.1.2. Parametri kod elektroispredanja	7
2.1.2.1. Električni napon	8
2.1.2.2. Brzina protoka polimerne otopine	8
2.1.2.3. Udaljenost kolektora od vrha igle	8
2.1.2.4. Ambijentalni parametri ili uvjeti okoline	9
2.1.2.5. Vrste kolektora	9
2.1.3. Karakterizacija elektroispredanih nanovlakana	10
2.1.4. Primjena elektroispredanih materijala	12
2.2. Prijenos lijekova unutar organizma i tkiva	13
2.3. Antibiotik u terapiji oka	16
3. EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1. Materijali	18
3.2. Metodologija rada	18
3.2.1. Priprema polimerne otopine za elektroispredanje	19
3.2.2. Elektroispredanje PCL/CEFUROXIM otopine	19
3.3. Karakterizacija pripremljenih elektroispredanih materijala	19
3.3.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)	19
3.3.2. Određivanje poroznosti	20
3.3.3. ATR-Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom	21
3.3.4. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)	22
3.3.5. Mehanička karakterizacija	22
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Izgled površine elektroispredanih materijala i morfologija vlakana	24
4.2. Poroznost elektroispredanih PCL i PCL/CFU materijala	34
4.3. Potvrđivanje kapsulacije antibiotika u elektroispredanom PCL-u	43
4.4. Utjecaj antibiotika na toplinska svojstva elektroispredanog PCL-a	37
4.5. Utjecaj antibiotika na mehanička svojstva elektroispredanog PCL-a	40

5. ZAKLJUČAK	43
6. ZAHVALA	44
7. LITERATURA	45
SAŽETAK	47
SUMMARY	48
ŽIVOTOPIS	49

1. UVOD

Elektroispredena nanovlakna stekla su veliku važnost posljednjih godina zbog svoje široke primjene u biomedicini, tkivnom inženjerstvu, izradi tekstila specijalne namjene, filtraciji, pohrani energije i sl. U biomedicini, područje izrade sustava za prijenos i otpuštanje lijeka unutar organizma je posebno istaknuto zbog prednosti u ciljanoj terapiji. Nanovlakna dobivena elektroispredanjem su najčešće veličine od 50 do 1000 nm, imaju veliku specifičnu površinu, visoku poroznost, malu veličinu pora, uz mogućnosti podešavanja prema potrebi u primjeni. Također, kao sirovina mogu se koristiti različiti polimeri za izradu nanovlakana uključujući one sintetskog ili prirodnog porijekla uz dodatak različitih vrsta punila, a u prijenosu lijekova može se koristiti i široki spektar istih.

U ovom radu pripremljeni su elektroispredeni materijali s nasumično orijentiranim nanovlaknima iz polikaprolaktona (PCL), koji će služiti za prijenos i ciljano otpuštanje ugrađenog antibiotika Cefuroxima, različitih koncentracija. Biorazgradivost i velika *in vitro* i *in vivo* biokompatibilnost polimera omogućili su primjenu PCL-a za razvoj brojnih sustava za prijenos lijeka unutar organizma.

Inovativne primjene nanotehnologije, uključujući i primjenu postupka elektroispredanja u medicini, donose profit i široj društvenoj zajednici kao i samoj medicinskoj struci. Područje interesa se neprestano širi, tako istraživanje značajki nanovlaknastih nosača s različitim lijekovima i njihovo ponašanje u organizmu postaje sve dominantnije. Istraživanja u nanomedicini traže temeljno razumijevanje reagiranja stanica na nanovlakna. Sama mogućnost ugradnje lijeka u elektroispredena nanovlakna značajno utječe na *in vivo* primjene. Veliki potencijal za kombiniranjem topografskih, biokemijskih i mehaničkih značajki nanomaterijala omogućava poboljšani razvoj stanica tj. rast ili zacjeljivanje tkiva. Raspon novih istraživanja se kreće od istraživanja interakcije stanica i nanovlakana, biofunkcionalizacije s imobilizacijom lijeka ili kapsulacije samog lijeka. Trenutno važan problem s kojim se suočavaju nanovlakna kao nosači za prijenos lijeka je sposobnost optimalnog otpuštanje lijeka unutar organizma. Različiti antibiotici koji se koriste za različite upale i infekcije moraju uspješno biti kapsulirani u elektroispredena nanovlakna kako bi zadovoljavali uvjete za održiv i vremenski ovisan prijenos lijeka unutar organizma.

1.1. Opći i specifični ciljevi rada

Cilj ovog rada je izrada i karakterizacija elektroispredenog materijala iz biorazgradivog polikaprolaktona uz dodatak antibiotika, koji bi se primjenjivao kao podloga za prijenos lijekova i kontroliranu terapiju oka. Nakon uspješne kapsulacije antibiotika (punila) u elektroispredena nanovlakna polikaprolaktona (matrice), ispituje se utjecaj količine antibiotika ili punila na svojstva matrice. U tu svrhu provodi se temeljna analiza elektroispredenog polikaprolaktona u odnosu na morfologiju nanovlakana, deformacija po duljini vlakna i pora koji vlakna čine nasumičnim pozicioniranjem. Nadalje, provodi se analiza ukupne poroznosti materijala, fizikalne i kemijske kapsulacije antibiotika u polikaprolakton, te toplinskih i mehaničkih svojstava materijala. Korištene metode rada uz proces izrade tj. elektroispredanje, uključuju: skenirajuću elektronsku mikroskopiju, diferencijalnu pretražnu kalorimetriju, ATR-Infracrvenu spektroskopiju s Fourierovom transformacijom, proračun poroznosti i vlačno istezanje materijala.

Specifični ciljevi rada se odnose na određivanje ovisnosti svojstava elektroispredenog polikaprolaktona o količini antibiotika kapsuliranog u nanovlaknima. Prema tome nakon provedene karakterizacije materijala utvrdio se utjecaj koncentracije antibiotika na:

- 1) promjer nanovlakana, površinu pora i nastanak deformacija, te njihov promjer,
- 2) kemijski sastav ili veze u elektroispredenom polikaprolaktonu,
- 3) ukupnu poroznost materijala,
- 4) temperaturu taljenja i kristalizacije, te odgovarajuće toplinske entalpije,
- 5) prekidnu čvrstoću i prekidno istezanje materijala.

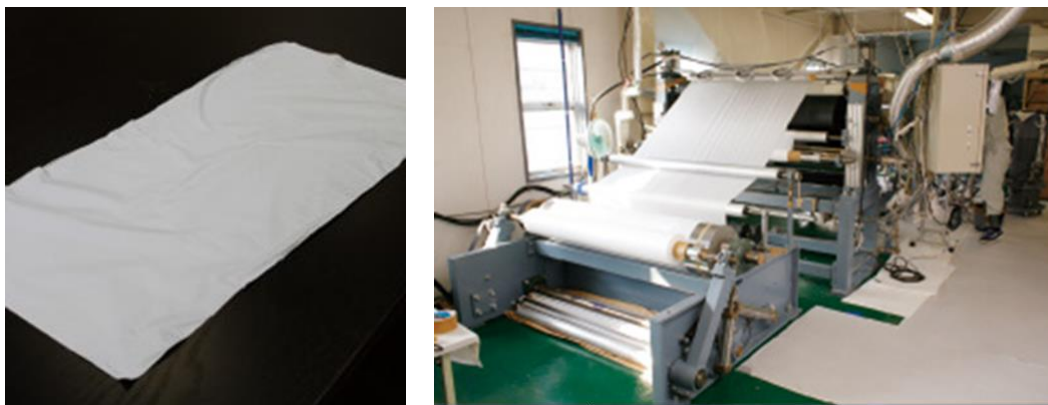
2. O TEHNOLOGIJI ELEKTROISPREDANJA

Začetak tehnologije elektroispredanja se temelji na zapisima Williama Gilberta iz 16.stoljeća o ponašanju magnetskog i elektrostatskog fenomena koje je on promatrao u svome laboratoriju. On je primijetio da kada se uz električno nabijeni komad jantara približe kapi vode, formira se oblik konusa od prvobitne kapljice vode i vrlo male kapljice bivaju izbačene iz vrha konusa. Ovaj fenomen je nazvan elektroraspršivanje. Ako se mlaz fluida pretvara u vrlo fina vlakna umjesto u male kapljice, proces je poznat kao elektroispredanje [1]. Trebalo je proći više od 200 godina da bi se proces elektroispredanja patentirao i to u SAD-u od strane John F. Cooleya i William J. Mortona na samom početku 20. stoljeća. Daljnji razvoj prema komercijalizaciji učinio je Anton Formhals, s nizom patenata od 1934. do 1944. za izradu tekstilnih pređa. C. L. Norton patentirao je 1936. tada novi način elektroispredanja,

onaj iz polimerne taline, koji je zamijenio do tada polimernu otopinu korištenu za ispredanje vlakana [2]. Između 1964. i 1969. godine Sir Geoffrey Ingram Taylor daje teorijsku analizu elektroispredanja. Taylor svojim radom doprinosi elektroispredanju tako što matematički analizira oblik konusa formiranog od polimerne otopine pod utjecajem električnog polja. Oblik kapljice fluida danas je poznat kao Taylorov konus [3]. U ranim 90-ima nekoliko istraživačkih skupina (osobito one od Renekera i Rutledgea, koji su popularizirali naziv elektroispredanje) pokazala su da mnogi organski polimeri mogu biti elektroispredeni u nanovlakna. Od tada, broj publikacija o elektroispredanju raste eksponencijalno svake godine [4].

Elektroispredanje omogućuje proizvodnju nanovlakna od različitih materijala u raznim vlaknastim strukturama. Ima relativno visoku stopu proizvodnje i jednostavnost izvedbe laboratorijskog uređaja što ga čini vrlo atraktivnim procesom za akademske i industrijske krugove [5]. Na slici 1 prikazan je primjer elektroispredanog materijala izrađenog na laboratorijskom uređaju (a) i primjer industrijskog uređaja za elektroispredanje (b).

U 21. stoljeću pojavljuje se niz novih naprednih tehnologija koje proširuju područje primjene elektroispredanih vlakana. Nova istraživanja na ovome polju donijela su radove mnogih pionira kao što je Wee-Eong Teo čiji dosezi uključuju razvoj instrumenta za izradu nanovlaknaste cjevčice s kontroliranim poravnavanjem vlakana, izrada beskonačne pređe od nanovlakana i trodimenzionalnih nanovlaknastih blokova dobivenih elektroispredanjem [6].



a.

b.

Slika 1. (a) elektroispredeni materijal u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, dimenzije: 600 x 300 mm [7], te (b) industrijski proizvedeni elektroispredeni materijal na uređaju za elektroispredanje tvrtke Hirose Paper Mfg Co iz Japana [8].

Broj publikacija o elektroispredanju u 2011. godini bio je otprilike deset puta veći od broja u 2003. Istraživanja se provode širom svijeta, među njima ponajviše dominiraju SAD-e, Kina i Južna Koreja s ok 70% objavljenih radova, a slijede ih Japan, Njemačka i Singapur. Ljestvica

objavljenih патенata po tvrtkama ili institucijama podnositelja zahtjeva govori kako najviše патенata ima tvrtka Du Pont u 2011. s objavljenih 62 патенata, iza nje slijedi Sveučilište u Akronu, s 44, te tvrtka Donaldson s 35 патенata što čini oko 65% ukupno objavljenih патенata te godine [9].

Na tržištu danas postoje proizvodi izrađeni od elektroispredenih kompozita na bazi nanovlakana. Takve proizvode moguće je naći kod tvrtke Kilwell Sports sa Novog Zelanda koja proizvodi proizvode namijenjene ribolovu. Štap za pecanje NZ Xantu 9064 Fly Rod izgrađen je od najnovijih elektroispredenih nanovlakana s dodanim nano česticama smole koje daju štapu dramatičan porast čvrstoće na savijanje prilikom povlačenja bez povećanja težine štapa. Uz to ne dolazi do smanjenja krutosti na savijanje i delokalizacije udarne energije [10].

2.1. Postupak elektroispredanja

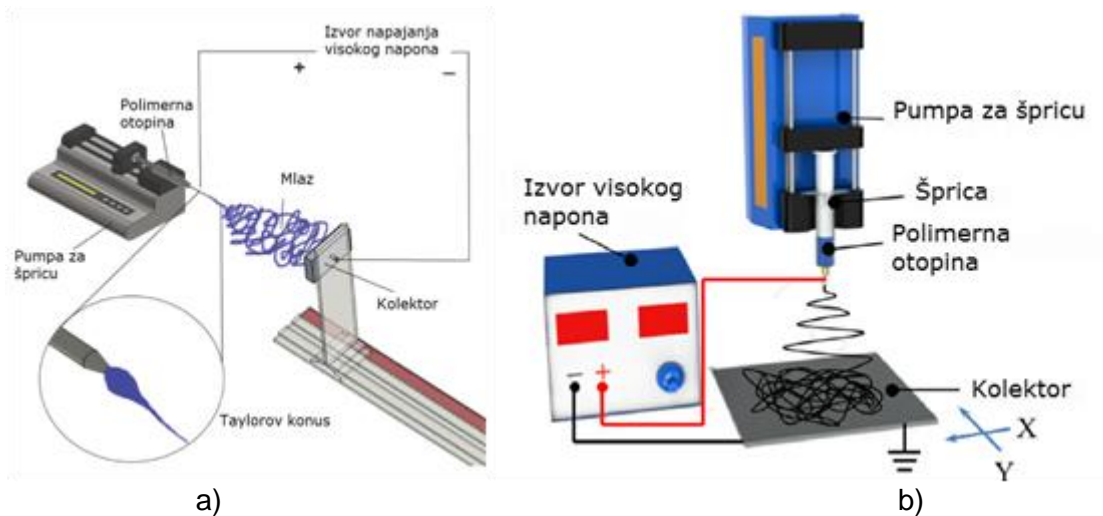
Elektroispredanju prethodi postupak elektroraspršivanja. Elektroispredanje je vrlo jednostavna i relativno jeftina tehnologija dobivanja elektroispredenih nanovlakana. Koristi se za proizvodnju polimernih nanovlakana promjera od 2 nm do nekoliko mikrometara koristeći polimerne otopine prirodnih i sintetskih polimera. Radi se o kontinuiranom procesu proizvodnje vlakana u submikronskom području inače teško dostižnom korištenjem konvencionalnih tehnologija ispredanja vlakana. Stoga proces doživljava ogroman rast u istraživanju posljednjih desetak godina [11].

Za formiranje finih elektroispredenih vlakana iz polimernih otopina ili talina potrebna je elektrostatska sila nastala uslijed električnog polja. Stoga, za istezanje polimernog fluida potreban je izvor istosmjernog napona u rasponu od nekoliko desetaka kV, te površina za sakupljanje nastalih finih vlakana. Elektroispredanje se najčešće provodi na sobnoj temperaturi uz uvjete standardne atmosfere [12].

Uređaj za elektroispredanje sastoji se od tri glavne komponente: -izvor visokog napona, pumpa i mlaznica (na primjer, šprica s iglom) i uzemljeni kolektor za prikupljanje vlakana (obično metalna ploča ili valjak). Izvor visokog napona nabija otopinu ili talinu polimera s određenim polaritetom koja potom biva izbačena prema kolektoru suprotnog polariteta. Tipični najjednostavniji primjer uređaja za elektroispredanje (vertikalne i horizontalne konfiguracije) prikazan je na slici 2 (a i b) [11].

Većina polimera otapa se u nekom organskom otapalu prije elektroispredanja, a kada se potpuno otopi formira se homogena polimerna otopina. Polimerna otopina se tada uvodi u špricu koja se postavlja na pumpu. Tijekom elektroispredanja, na polimernu otopinu djeluje sila površinske napetosti, te je tako drži u obliku kapljice na vrhu ravne igle. Električni naboj

induciran na površini polimerne otopine uslijed električnog polja omogućava istežanje polimerne otopine i formiranje vlakana [12].



Slika 2. Shematski prikaz uređaja za elektroispredjenje (a) okomita ili vertikalna konfiguracija (b) horizontalna konfiguracija [11].

2.1.1. Polimeri koji se koriste u elektroispredjenju

Kod elektroispredjenja vlakna se dobivaju iz različitih sintetskih polimera, prirodnih polimera ili mješavine oba uključujući proteine. Tijekom godina, više od 200 polimera je uspješno elektroispredano iz nekoliko prirodnih polimera, a karakterističnih s obzirom na njihovu primjenu. Tipični prirodni polimeri uključuju kolagen, hitosan, želatinu, kazein, celulozni acetat, svileni protein fibroin, hitin, fibrinogen itd. [11].

Sintetski polimeri često nude mnoge prednosti u odnosu na prirodne polimere, jer se mogu prilagoditi kako bi se dobio širi spektar svojstava, kao što su, potrebna mehanička svojstva (viskoelastičnost i čvrstoća) i željena brzina razgradnje. Tipični sintetski polimeri koji se koriste u biomedicinskom području primjene su hidrofobni biorazgradivi poliesteri, kao poliglikolid (PGA) i polilaktid (PLA) [11].

Tablica 1. Polimeri koji se koriste u elektroispredjenju, metode karakterizacije i njihova primjena [11].

Polimer	Karakterizacija	Primjena	Reference
Poliglikolid (PGA)	SEM, TEM, <i>in vitro</i> uzgoj fibroblastnih stanica na modelu štakora	Biomedicina, tkivno inženjerstvo (tkivo srca)	Boland i sur. (2004.)

Polilaktid-ko-glikolid (PLGA)	SEM, WAXD, SAXS, analiza degradacije	Biomedicina	(Zong i sur., 2003; Katti i sur., 2004.)
Polikaprolakton (PCL)	SEM, <i>in vitro</i> uzgoj mezenhimalne matične stanice na modelu štakora	Biomedicina, tkivno inženjerstvo (koštano tkivo)	Yoshimoto i sur., (2003.)
Poli-L-laktid (PLLA)	SEM, <i>in vitro</i> uzgoj ljudskih hondrocitnih stanica	Biomedicina, tkivno inženjerstvo	Fertala i sur., (2001.)
Poliuretani (PU)	SEM, <i>in vivo</i> implantacija na modelu zamorca	Biomedicina, tkivno inženjerstvo, zacjeljivanje rana	Khil i sur., (2003.)
Poli (etilen-vinil acetat) (PEVA)	SEM, <i>in vitro</i> uzgoj model ljudskih stanica aortnog mišićnog tkiva i uzgoj dermalnih fibroblasta	Biomedicina, tkivno inženjerstvo (tkivo srca i koža)	Kenawy i sur., (2003.)
Polistiren (PS)	SEM, <i>in vitro</i> uzgoj ljudskih fibroblasta, keratinocita, endotelnih stanica, analiza strukture i vijabilnosti	Biomedicina, tkivno inženjerstvo (koža)	Sun i sur., (2005.)
Fibrinogen	SEM, TEM, mehanička svojstva	Biomedicina, zacjeljivanje rana	Wnek i sur., (2003.)
Celulozni acetat (CA)	SEM, FTIR	Adsorptivne membrane	Zhang i sur., (2008.)
Polivinil alkohol (PVA)	SEM, EDXi	Biomedicina, zacjeljivanje rana	Jia i sur., (2007.)
PVA/CA	SEM, FTIR, WAXD, mehanička svojstva	Biomaterijali	Ding i sur., (2004.)
Fibroin/Polietilen oksid (PEO)	SEM, FTIR, XPS	Biomedicina, tkivno inženjerstvo	Jin i sur., (2002.)
Fibroin/hitozan	SEM, analiza viskoznosti, mjerenje vodljivosti	Biomedicina, zacjeljivanje rana	Park i sur., (2004.)

Hitozan/PEO	SEM, XPS, FTIR, DSC	Biomedicina, tkivno inženjerstvo, zacjeljivanje rana, prijenos lijekova unutar organizma	Duan i sur. (2004.)
Hijaluronska kiselina (HA)	SEM	Biomedicina, medicinski implantat	Um i sur. (2004.)
Kolagen/hitozan	SEM, FTIR	Biomaterijali	Chen i sur. (2007.)

Do danas, postupkom elektroispredanja izrađuju se nanovlaknasti nosači iz brojnih biorazgradivih polimera, kao što su poli(ε-kaprolakton) (PCL), polilaktid (PLA), poli(glikolna kiselina) (PGA), poliuretan (PU), kopolimer poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) i sl. U tablici 1 dan je popis najčešće korištenih polimera u elektroispredanju, metode karakterizacije i njihova primjena [11].

2.1.2. Parametri kod elektroispredanja

U procesu elektroispredanja od ključne važnosti za izgled elektroispredenog materijala, tj. morfologiju vlakana, su parametri, razvrstani u tri kategorije i to redom: parametri otopine, procesni parametri, te uvjeti okoline [13].

Parametri otopine uključuju: koncentraciju, viskoznost, vodljivost, površinsku napetost i molekularnu masu polimera, dok uvjeti okoline uključuju: relativnu vlažnost zraka, temperaturu i brzinu strujanja zraka.

Tablica 2. Parametri otopine i njihov učinak na morfologiju vlakana [11].

Parametri polimerne otopine	Učinak na morfologiju vlakana
Viskoznost	Manja viskoznost - veće grudice, veća viskoznost - veliki porast promjera vlakana
Koncentracija	Povećanje promjera vlakana s povećanjem koncentracije
Vodljivost	Smanjenje promjera vlakana s povećanjem vodljivosti
Površinska napetost	Bez poveznice s morfologijom vlakana, velika površinska napetost rezultira nestabilnim mlaznom
Molekulna masa polimera	Smanjenje broja grudica i kapljica s povećanjem molekularne mase

Procesni parametri koji utječu na veličinu promjera elektroispredenih vlakana su:

- električni napon
- brzina protoka polimerne otopine
- udaljenost od mlaznice (vrha igle) do kolektora vlakana
- vrijeme elektroispredanja

2.1.2.1. Električni napon

U postupku elektroispredanja ključni element za morfologiju vlakana je električni napon. Tek nakon postizanja kritične vrijednosti električnog napona, dolazi do oblikovanja vlakana, tj. proces se inicira nakon polariziranja otopine električnim nabojem. Već je dokazano eksperimentalno da oblik inicijalnog pada naboja mijenja uvjete elektroispredanja (napon, viskoznost i brzinu protoka polimerne otopine). Istraživači su predložili da kada se primjenjuje veći električni napon, veća se količina polimerne otopine protiskuje kroz mlaznicu, a to rezultira formiranjem većeg promjera vlakana. Dokazano je da dolazi do smanjena promjera vlakana za otprilike pola prilikom udvostručenja električnog napona. Električni napon utječe na promjer vlakana, ali koliko značajno ovisi o koncentraciji polimerne otopine i udaljenosti između vrha igle i kolektora [12].

2.1.2.2. Brzina protoka polimerne otopine

Brzina protoka polimerne otopine je važan procesni parametar jer utječe na brzinu mlaza i brzinu prijenosa materijala. Poželjna je niža brzina protoka polimerne otopine jer će onda otapalo dobiti dovoljno vremena za isparavanje. Uočeno je da se promjer vlakana i promjer pora povećava s povećanjem brzine protoka polimerne otopine u slučaju polistirenskih (PS) vlakana, pri čemu sama morfološka struktura može biti neznatno promijenjena [11].

2.1.2.3. Udaljenost kolektora od vrha igle

Udaljenost između vrha igle i kolektora je još jedan parametar za kontrolu promjera vlakana i morfologije. Utvrđeno je da postoji minimalna udaljenost koja omogućava vlaknima dovoljno vremena da se osuše prije dolaska na kolektor. U suprotnom, pri puno manjoj ili puno većoj udaljenosti uočene su kapljice na kolektorima umjesto vlakna. Uz to važnu ulogu igra vrsta polimerne otopine, odnosno korišteno otapalo, jer vodene otopine polimera zahtijevaju veću udaljenost do kolektora za stvaranje vlakana u odnosu na otopine iz visoko hlapljivih organskih otapala [12].


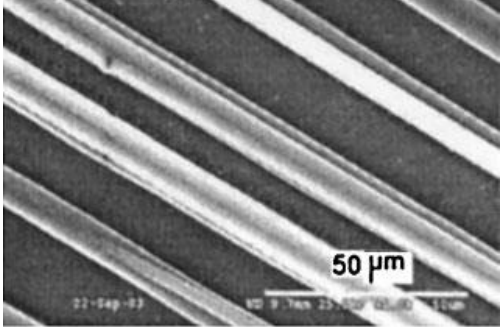
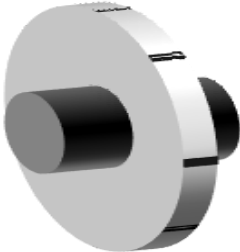
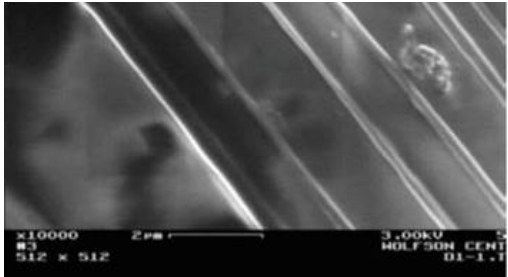
2.1.2.4. Ambijentalni parametri ili uvjeti okoline


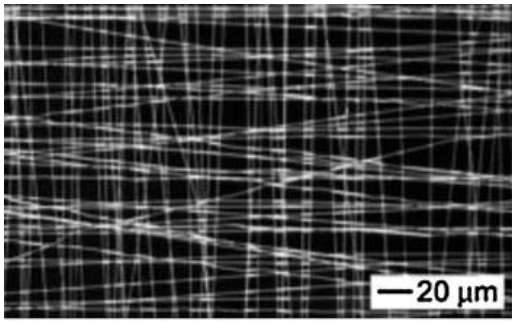
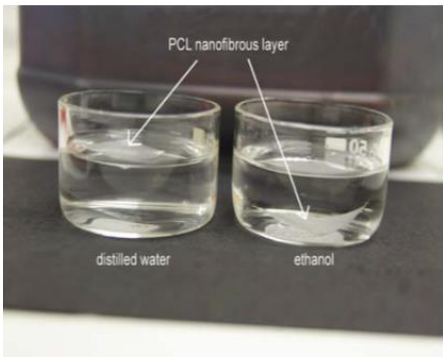
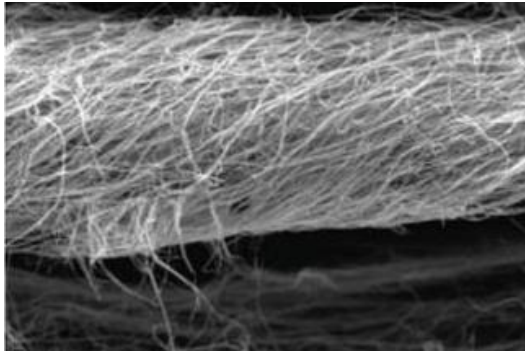
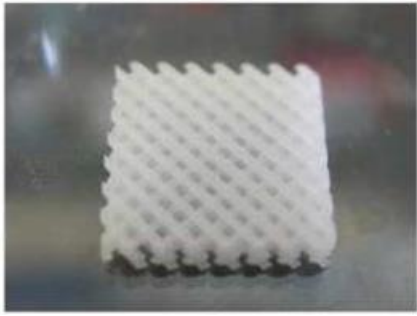
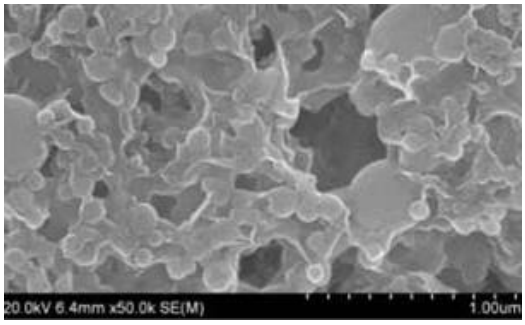
Osim procesnih parametara, postoje i parametri okoline koji uključuju vlagu, temperaturu i sl.. Ovi uvjeti su upravo oni na koje se teže može utjecati tijekom procesa elektroispredanja. Razna istraživanja su provedena kako bi se ispitalo djelovanje parametara okoline (na primjer, temperature i relativne vlažnosti zraka). Tako je utvrđeno da će visoka razina vlažnosti rezultirati kružnim porama na vlaknima, dok povećanje temperature okoline dovodi do smanjenja promjera vlakana [11].

2.1.2.5. Vrste kolektora

Osim navedenih parametara koji direktno utječu na morfologiju vlakana, u postupku elektroispredanja važan parametar koji utječe na pozicioniranje ili raspored vlakana, a samim time i na izgled elektroispredenog materijala, je kolektor vlakana. Kolektor je vodljiva podloga gdje se prikupljaju nanovlakna. Najjednostavniji oblik kolektora je ravna ploča prekrivena s aluminijskom folijom. Zbog potrebe poravnavanja vlakana ili izrada 3D struktura za različite namjene, kolektori su se tijekom godina istraživanja modificirali, pa se tako koriste i: vodljivi papir, vodljive tkanine, žičane mreže, igle, rotirajući štapovi, valjci, diskovi, koagulacijske kupelji, metalni kolektori ciljane geometrije, 3D printani kolektori i sl., tablica 3 [11].

Tablica 3. Različiti kolektori i izgled elektroispredenih vlakana [14].

Kolektor	Geometrija kolektora	SEM slika vlakana
Tanka igla od nehrđajućeg čelika s oštrim vrhom [15].		
Rotirajući disk [14].		

<p>Žičana mreža [14].</p>		
<p>Koagulacijska kupelj [16].</p>		
<p>3D printani kolektor [17].</p>		

2.1.3. Karakterizacija elektrospredanih nanovlakana

Obzirom da se u elektrospredanju kao sirovina koriste polimeri vrlo su bitne njihove karakteristike prije, ali poglavito nakon elektrospredanja, tj. svojstva elektrospredanih polimernih nanovlakana. Metode karakterizacije mogu se svrstati u tri kategorije i to: strukturne, mehaničke i kemijske.

- Strukturna karakterizacija

Fizikalna svojstva su povezana sa strukturom i morfologijom, kao i unutarnjom strukturom nanovlakna koja u konačnici određuju i mehanička svojstva materijala. Geometrijska svojstva

nanovlakna uključuju: promjer vlakna, aritmetički promjer, orijentaciju vlakana, i morfologiju vlakana (npr. poprečni presjek i hrapavost površine). Uređaji koji se koriste za određivanje geometrijskih svojstava materijala su: skenirajući elektronski mikroskop (SEM), Skenirajući elektronski mikroskop s emisijom polja (FESEM), transmisijski elektronski mikroskop (TEM) i mikroskop atomskih sila-nanoskop (AFM) [11].

Poroznost (ϕ) kao jedan od geometrijskih parametara važan je zbog veličine pora kod nanovlakanastih materijala zbog njihove primjene u filtraciji, tkivnom inženjerstvu, zaštitnoj odjeći i sl. Poroznost je sposobnost materijala da u jednome smjeru propušta plinove, kapljevine i čvrste tvari kroz fine otvore. Pomoću nje se određuje veličina prostora bez sadržaja čvrstih čestica, dakle pora i šupljina, stoga materijal može imati vrijednosti poroznosti od 0 do 1, odnosno u postocima od 0-100%. Ako bi se poroznost matematički iskazala onda bi to bio omjer volumena šupljina V_s i volumena tijela V_t , odnosno $\phi = V_s/V_t$ [18].

- *Mehanička karakterizacija*

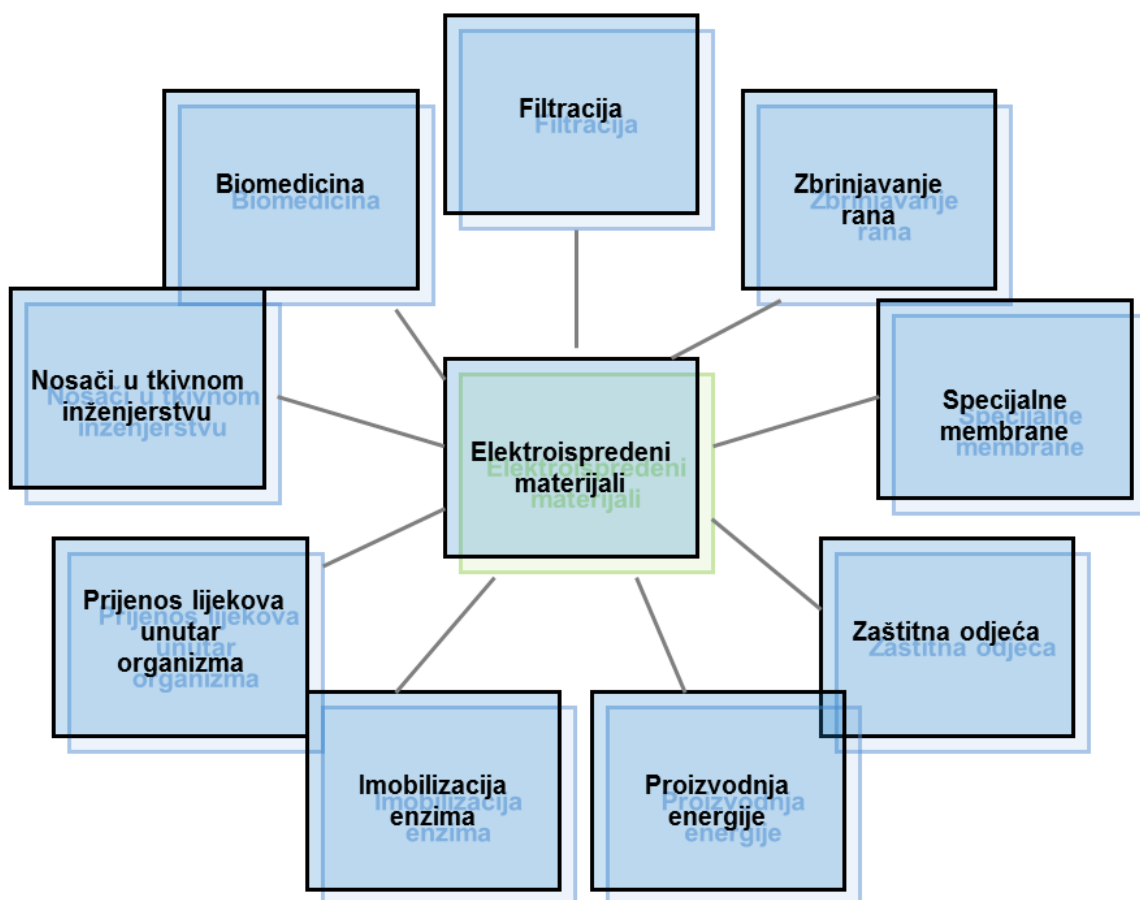
Kod odabira elektroispređenog materijala za razne namjene, ključna karakteristika su i mehanička svojstva materijala. Važno je odrediti zahtjeve materijala poput: čvrstoće, propunosti ili krutosti i sl. Zato je potrebno precizno mjerenje mehaničkih svojstava nanovlakanaste strukture, posebno kod biomedicinske primjene, gdje nosač mora biti u stanju izdržati sile koje djeluju na rastuće tkivo ili tijekom fizioloških aktivnosti i srodnih biomehaničkih aktivnosti, primjerice pulsirajući protok krvi. Postoje razni pristupi koji se primjenjuju kod mehaničke karakterizacije nanovlakana uključujući: ispitivanje tvrdoće po Brinellu, testovi savijanja, mjerenje frekvencije rezonancije i ispitivanja mikro napetosti, nadalje određivanja Youngovog modula, vlačne čvrstoće, i naprezanja pri prekidu, koji se također određuju izvođenjem testova za čvrstoću nanovlakana [12].

- *Kemijska karakterizacija*

Važno je napomenuti da kemijska karakterizacija elektroispređenih nanovlakana ima izuzetno važnu ulogu u razumijevanju odnosa između strukture i svojstava tih materijala. Stoga je nužno upoznati se s metodama za kemijsko karakteriziranje koji se koristi za identifikaciju elektroispređenih nanovlakana. Postoji nekoliko metoda kemijske karakterizacije, kao što su nuklearna magnetska rezonancija (NMR), gel permeacijska kromatografija (GPC), elementarna analiza (EA), energetska disperzivna rendgenska spektroskopija (EDS), Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) itd. Trenutna istraživanja vezana uz polimerna (kompozitna) nanovlakna su ponajviše fokusirana na potencijalnu komercijalnu primjenjivost materijala [13].

2.1.4. Primjena elektroispredenih materijala

Postoji neprestano istraživanje o potencijalnoj primjeni elektroispredenih materijala u različitim područjima gdje bih ovi materijali mogli pružiti svoje prednosti, kao što su veliki omjer površine prema volumenu, vrlo visoka poroznost i poboljšana fizikalno-mehanička svojstva. Moguće je vrlo lako manipulirati parametrima procesa, te karakteristikama polimerne otopine, kako bih se dobila željena morfologija vlakana i mehaničku čvrstoću [12]. Od najzastupljenijih područja primjene izdvajaju se područja: filtracije, zaštitne odjeće, proizvodnje energije, specijalne membrane, biomedicine i sl, slika 3.



Slika 3. Područja primjene elektroispredenih materijala [11].

Područje biomedicine je jedno od najpovećanijih područja primjene elektroispredenih materijala. Tu spada i tkivno inženjerstvo gdje elektroispredanje u odnosu na druge postupke formiranja nanovlakana kao što su molekulska samoudruživanje, fazno odvajanje i sl., pruža jednostavniji i isplativiji način proizvodnje vlaknastih nosača s međusobno povezanim strukturama pora pogodni za uzgoj tkivnih stanica pri rekonstrukciji tkiva.

Nosači - koji se koriste u tkivnom inženjerstvu predstavljaju trodimenzionalne biokompatibilne strukture čija je osnovna funkcija omogućiti prianjanje tkivnih stanica. Nosač bi trebao biti jednostavan za proizvodnju, rukovanje i pohranu. Nosači služe kao privremene podloge za rast tkivnih stanica, distribuciju, proliferacije i diferencijacije prije regeneracije biološki funkcionalnog tkiva.

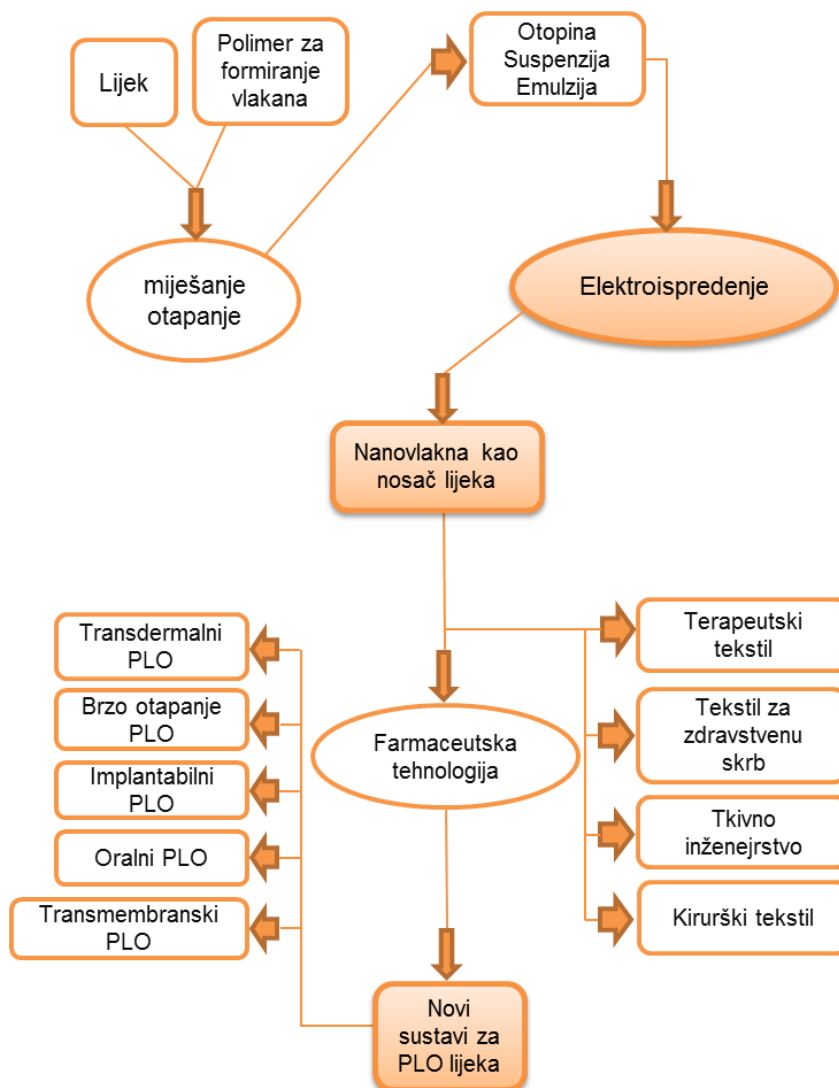
Za zacjeljivanje rana, idealni zavoj trebao bi imati određene karakteristike kao što je hemostatičku sposobnost, bakterijsku barijeru, sposobnost apsorpcije viška izlučevina (tekućina iz rane / gnoj), odgovarajuću brzinu prijenosa vodene pare, sposobnost da se prilagodi konturi područja rane, funkcionalno prianjanje, tj. prianjanje na zdravo tkivo, ali ne prianjanje na ranu, bezbolno i jednostavno uklanjanje, i na kraju niska cijena. Trenutno korištenje nanovlaknastih materijala kaomedicinski zavoji još uvijek je u povojima, ali ovi materijali udovoljavaju većini zahtjeva navedenih za liječenje rana zbog svoje mikro/nano fibrilne strukture pružajući sva željena svojstva [11].

2.2. Prijenos lijekova unutar organizma i tkiva

U ovom radu izrađen je elektroispredeni materijal s potencijalnom primjenom na području prijenosa lijekova u organizam ili tkiva, te je stoga vrlo važno razumjeti mehanizam prijenosa lijekova u ljudskom tijelu. Kod klasičnog uzimanja lijeka nakon ulaska u krvotok lijek se raspoređuje po organizmu. Ta je raspodjela neujednačena zbog razlika u perfuziji pojedinih organa, zbog razlika u vezanju o tkiva (npr. nejednak sadržaj lipida), zbog lokalnog pH ili zbog osobitosti u permeabilnosti pojedinih membrana. Stopa tkivnog ulaska određenog lijeka ovisi o prokrvljenosti, o masi tkiva i o odnosima između krvi i tog tkiva. Tkivna distribucija određenog lijeka ovisi o stupnju njegovog vezivanja o plazmatske proteine i o tkiva [19]. Kontrolirano otpuštanje lijeka pri određenoj brzini moguće je s biokompatibilnom i biorazgradivom polimernom matricom. Elektroispredeni nanovlaknasti materijali se primjenjuju kao nosači lijeka zbog svojih dobrih funkcionalnih karakteristika [11].

Prvi rad o elektroisprednim vlaknima kao sustavima za prijenos lijekova unutar organizma zabilježio je Kenawy i sur. 2002. godine. Elektroispredene nanovlaknaste podloge korištene su kao sustav za prijenos lijeka unutar organizma (slika 4.) koristeći pritom tetraciklin hidroklorid kao model lijeka. Netkane podloge bile su izrađene od polilaktid (PLA) i poli (etilen-ko-vinil acetata) (PEVA), ili iz smjese 50:50 dviju kloroformskih otopina. Profili oslobađanja lijeka davali su obećavajuće rezultate prilikom njihova uspoređivanja s tada komercijalno dostupnim DDS-Actisite® (Tetraciklin - Alza Corporation, Palo Alto, CA). Kasnije studije utvrdili su kako priprema nanovlakana iz polimera s različitim sposobnostima prijenosa lijekova unutar organizma, kao što su transdermalni, imaju brzo otapanje i implantabilni prijenos lijeka unutar organizma [20].

Sustavi za prijenos lijeka unutar organizma (PLO) oslanjaju se na vremensku kontrolu, promjene pH duž gastrointestinalnog sustava, djelovanju lokalnih enzima da potaknu otpuštanje lijeka i promjene u intraluminalnom pritisku. Otapanje enteričkih polimera događa se zbog promjene lokalnog pH i redukcije azo-veza i za rezultat ima oslobađanje aktivnog sredstva što se koristi i za komercijalne proizvode. *In vitro* i *in vivo* studije pokazale su da su brzine otpuštanja lijekova iz nanovlakana poboljšane u usporedbi s onima iz izvorne ljevakovite tvari. Velika se usredotočenost stavlja na različite vrste korištenih polimera u pripremi nanovlakana, pogotovo studije citotoksičnosti [21].

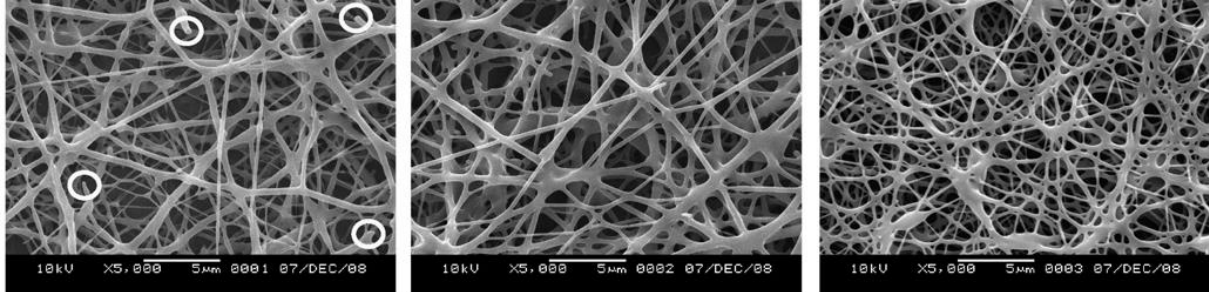


Slika 4. Priprema i primjena elektroispredenih nanovlakana za prijenos lijeka [20].

Razvijaju se novi pristupi elektroispredanja i korištenja ljevakovitih supstanci. Tako su kineski znanstvenici napravili ultra fine kompozitne vlaknaste podloge iz mješavine polikaprolaktona i poli(trimetilen karbonata) PCL/PTMC, te koristili kao materijal za prijenos lijekova kako bi se kapsulirao biljni lijek shikonin izoliran iz biljke *Lithospermum erythrorhizon*. *In vitro* studije

oslobađanja lijeka pokazale su početnu brzinu otpuštanja shikonina (slika 5) praćeno s fazom platoa nakon 11 sati. Tijekom cijelog razdoblja otpuštanja, brzina otpuštanja shikonina povećavala se s porastom PTMC koncentracije i sadržaja lijeka u vlaknima [22].

Bez lijeka

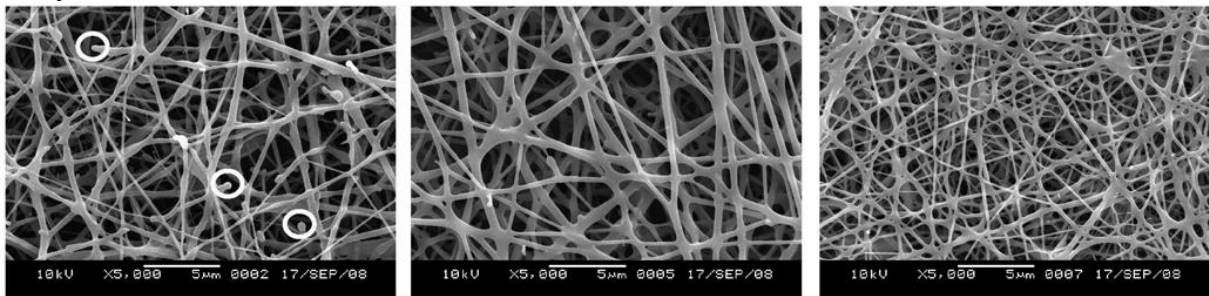


a)

b)

c)

Sa lijekom



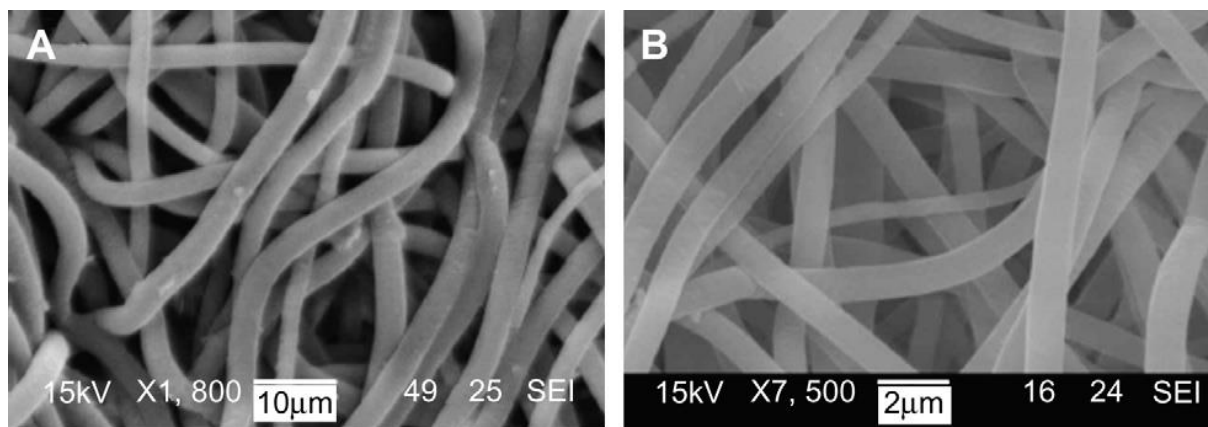
d)

e)

f)

Slika 5. SEM slike elektrospredenih nanovlakana bez lijeka i 5 mas % Shikonina unutar nanovlakana od PCL/PTMC s različitim omjerima PCL/PTMC mješavine: (a i d) PCL/PTMC 9:1, (b i e) PCL/PTMC 7:3, (c i f) PCL/PTMC 5:5 [22].

Sve se više razvijaju biorazgradivi implantati od nano/mikrovlakana koristeći tehniku elektrospredenja u terapiji različitih malignih tumora, npr. glioma, s istraživanjem provedeno *in vitro* i *in vivo*. Kao lijek se koristio *Paklitaxel* pomiješan s polimerom PLGA s omjerom od 85:15 za dobivanje mikrovlaknastih nosača, i s omjerom 50:50 za dobivanje sub-mikrovlaknastih nosača kako sustavi za oslobađanja lijeka. Istraživanjem je potvrđeno trajno oslobađanje lijeka i poboljšano zaustavljanje tumora. Stoga bi se mikrovlaknasti PLGA mogao koristiti kao implantat za prijenos lijeka unutar organizma igrajući ključnu ulogu u lokalnoj kemoterapiji tumora mozga [23].



Slika 6. SEM slike elektrospredjenih vlakana: Paklitaksel-PLGA mikrovlakna (a), Paklitaksel-PLGA sub-mikronska vlakna (b) [23].

2.3. Antibiotik u terapiji oka

Očne infekcije zahvaćaju godišnje u SAD-u oko milijun ljudi, i to najviše u dobi od 30 do 55 godina života pogotovo one koje koriste kontaktne leće. Pritom veliki broj infekcija se događa nakon operacije očiju jer tada dolazi do pada imuniteta. Mnogi obole upravo zahvaćeni bakterijom hemofilus influence [24]. Kod hemofilusa se češće koristi tvar cefuroksim koja vrlo uspješno rješava problem. Jedan od mnogobrojnih lijekova koji koristi cefuroksim kao djelatnu tvar je antibiotik tvrtke Astro Pharma trgovačkog naziva Cefuroxim. CEFUROXIM® je antibiotik za lokalno liječenje vanjskih infekcija oka i njegovih adneksa, uzrokovanih osjetljivim bakterijama. Cefuroksim je polusintetski cefalosporinski antibiotik, koji je, obzirom na antimikrobni spektar i rezistenciju na bakterijske beta-laktamaze, svrstan u drugu generaciju cefalosporina. Djelovanje mu je baktericidno, slično kao i kod ostalih beta laktamskih antibiotika, što pokazuje da se raspadanje bakterijske stijenke događa nakon vezanja cefuroksima na specifične PBP (proteini za vezivanje penicilina) receptore na staničnoj stijenci bakterije. Cefuroksim djeluje na većinu Gram pozitivnih aerobnih bakterija *Staphylococcus aureus* ali ne i sojeve koji su meticilin rezistentni, *S. pyogenes*, B-tip streptokoka i djeluje protiv mnogih bakterija otpornih na cefalotin. Najveći broj sojeva *Bacteroides fragilisa* otporni su na cefuroksim, dok su Gram-negativne bakterije poput *Escherichia coli* i *Salmonella spp* vrlo osjetljive na prisutnost cefuroksima [25].

Cefuroksim je registriran za intrakameralne (daje se u oko tokom operacije katarakte) antibiotske profilakse, koji je klinički dokazan da smanjuje učestalost postoperativnog endoftalmitisa.

Endoftalmitis je upala koja vjerojatno nastaje zbog bakterijske ili gljivične infekcije i zahvaća sve unutarnje slojeve oka, očnu vodicu (staklasta vodica) i bjeloočnicu (sklera). Uzrok

infekcije može biti ubodna rana oka, kirurški zahvat ili bakterije koje su u oko dospjele krvnom strujom [26]. Korištenjem intrakameralnog cefuroksima za vrijeme operacije značajno se smanjio rizik za razvoj endoftalmitisa nakon operacije katarakte. Studije govore da na 10.000 operacija katarakte, čak 23,3 % pacijenata može očekivati razvoj gram–pozitivnog endoptalmitisa. S primjenom intrakameralnog cefuroksima postotak oboljelih pada na samo 4.4 %. Na globalnoj razini, svake se godine izvede 10 milijuna operacija katarakte, time se učestalost endoftalmitisa penje na broj od 23.000 godišnje. Ako bi svi kirurzi u svakoj operaciji koristili intrakameralni cefuroksim, incidencija endoftalmitisa bi se smanjila na 4.400. Uz samu korisnost uvijek se postavlja pitanje toksičnosti za pacijenta, koji očekuje maksimalnu zaštitu svog zdravlja prilikom operativnih zahvata. Jedna švedska studija tvrdi kako intrakameralna injekcija cefuroksima nije otrovna, istraživanje je provedeno na tisuće očiju koje su primile intraokameralni cefuroksim bez ikakvih štetnih učinaka. Nastanak ili pojava endoptalmitisa ne ovisi samo o načinu zatvaranja rane, jer slični profilaktički rezultati mogu se dobiti intrakameralnom injekcijom cefuroksima na kraju ekstrakapsularne ekstrakcije katarakta [27].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Izrada elektroispredenih materijala, te njihova mehanička karakterizacija provedeni su na Zavodu za temeljne prirodne i tehničke znanosti, Laboratorij za elektroispredanje, te Zavodu za projektiranje i menadžment tekstila, na Tekstilno-tehnološkom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Diferencijalna pretražna kalorimetrijska analiza i spektrometrija sa infracrvenom Fourierovom transformacijom, provedeni su na Zavodu za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu. Elektronsko mikroskopsko snimanje pripremljenih materijala provedeno je u Centru za istraživanje materijala Istarske županije METRIS u Puli.

3.1. Materijali

Materijali korišteni u radu su polikaprolakton (PCL) $M_n=80,000$ i otapala: glacijalna octena kiselina i aceton, proizvođača Sigma Aldrich. Korišteni lijek s antibiotskim djelovanjem je CEFUROXIM (CFU), ljubazno poklonjen od suradnika iz Bolnice za oftamologiju – Svjetlost, Zagreb.

3.2. Metodologija rada

3.2.1. Priprema polimerne otopine za elektroispredanje

U ovome radu pripremljena je 10% otopina PCL-a u mješavini otapala, glacijalne octene kiseline i acetona s volumnim omjerom 8:2, slika 7a. PCL se najprije otapa u glacijalnoj octenoj kiselini konstantnim miješanjem na magnetskoj miješalici oko 12 sati, nakon otapanja dodaje se aceton i nastavlja se miješanjem uz zagrijavanje na temperaturi od 50 °C kako bi se dobila homogena otopina. Antibiotik CEFUROXIM, slika 7b se dodaje naknadno u koncentraciji od: 0,5%, 1%, 1,5% i 2% na 100 ml polimerne otopine, te se nastavlja miješanjem na istoj temperaturi oko 1 sat.



a)



b)

Slika 7. Polimerna otopina PCL-a na magnetskoj miješalici (a) i lijek CEFUROXIM (b).

3.2.2. Elektroispredanje PCL/CEFUROXIM otopine

Elektroispredanje pripremljenih PCL/CEFUROXIM otopina vrši se na uređaju za elektroispredanje, NT-ESS- 300, NTSEE Co. Ltd. South Korea, slika 8. Uređaj se sastoji od sljedećih komponenti: 1) pumpa i šprica sa iglom ravnog vrha, 2) izvor visokog napona, te 3) rotirajući cilindar, tj. kolektor. U ovom radu izvršena je modifikacija, te je korištena ravna podloga kao kolektor. Uvjeti rada u procesu elektroispredanja su:

- električni napon: 15-16 kV,
- udaljenost od vrha igle do kolektora vlakana: 15 cm,
- brzina protoka polimerne otopine: 1 mL/h.

4 mL polimerne otopine čistog PCL-a ili mješavine s antibiotikom puni se u plastičnu špricu, proizvođača BD plastic, uz iglu ravnog vrha veličine 21G, te se ispreda u vremenu od 4 sata. Zbog toksičnosti organskih otapala rukovanje njima se provodi s oprezom, tj. potrebno je koristiti zaštitnu opremu za rad u laboratoriju (kuta, rukavice, maska i sl.).



Slika 8. Uređaj za elektroispredanje – Sveučilišta u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet.

3.3. Karakterizacija pripremljenih elektroispredanih materijala

3.3.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Za određivanje morfologije vlakana, te izgled površine elektroispredanih materijala uzorci su snimljeni na skenirajućem elektronskom mikroskopu SEM QUANTA 250, FEI, slika 9. Prije snimanja uzorci su pripremljeni nanošenjem tankog sloja zlata kako bi postali elektrovodljivi. Uzorci su snimljeni na nekoliko različitih mjesta s uvećanjima od 5000 do 10000 puta. Za

određivanje promjera vlakana i promjera deformacija (grudica) po duljini vlakna, te površinu pora izvršena su mjerenja sa SEM slika u programu *ImageJ*. U tu svrhu mjerenje je provedeno na 50 nasumično odabranih vlakana, deformacija ili pora.



Slika 9. SEM mikroskop QUANTA 250, FEI [28].

3.3.2. Određivanje poroznosti

Poroznost elektroispredenih materijala određena je računski prema jednadžbi 1. Debljina elektroisprednih materijala određena je pomoću mikrometra: Digi Micrometer Mitutoyo, broj 393-340-30, debljina mjerenja: 0-25 mm, točnost: 0,001 mm, slika 10. Debljina je izražena kao srednja vrijednost na temelju tri mjerenja s nasumičnih mjesta na svakom uzorku. Dimenzije uzoraka su oko 2x2 cm, te je za proračun korištena njihova površina, masa i teorijska gustoća PCL-a.

$$P = [1 - m/(A \cdot h)] / \rho * 100 \quad (1)$$

gdje je: P = poroznost elektorispredenog materijala (%),

m = masa elektorispredenog materijala (g)

A = površina elektorispredenog materijala (cm²)

h = debljina elektorispredenog materijala (cm)

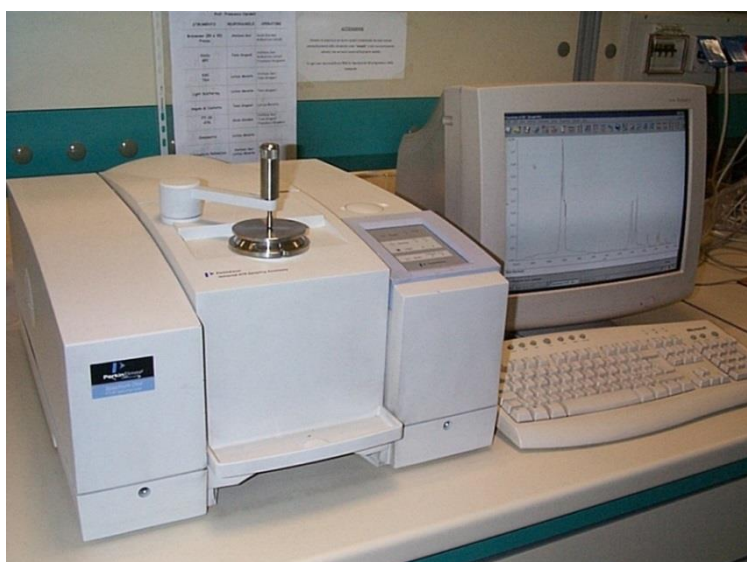
ρ = gustoća polimera (g/cm³)



Slika 10. Debljinomjer – mikrometar

3.3.3. ATR-Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR)

U ovoj metodi se koriste infracrvene zrake koje ili uzorak apsorbira ili prolaze kroz uzorak. Rezultirajući spektar predstavlja molekularnu apsorpciju i transmisiju odnosno prijenos, stvarajući molekularni otisak uzorka. Kao i otisak prsta ne postoje dvije molekularne strukture koje proizvode isti infracrveni spektar, što čini infracrvenu spektroskopiju korisnu za nekoliko vrsta analiza. Interferometar proizvodni jedinstvenu vrstu signala koji ima sve infracrvene frekvencije zapisane u sebi. Signal se može mjeriti jako brzo, obično u jednoj sekundi. Većina interferometara sadrži separator zraka koji prima ulaznu infracrvenu zraku i razdvaja ju u dvije optičke zrake [29]. Za određivanje kapsulacije CEFUROXIMA u polimernoj PCL matrici, te utvrđivanje moguće promjene u kemijskim vezama spojeva korištena je ATR-FTIR spektroskopija, FTIR Spectrum One, Perkin Elmer uz ATR komoru, slika 11.



Slika 11. Perkin-Elmer Spectrum One FTIR spektrometar

3.3.4. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Toplinska svojstva elektroispredenih materijala određena su na DSC instrumentu Mettler Toledo DSC 822 e, slika 12. Toplinska analiza DSC-om zasniva se na zagrijavanju ili hlađenju uzorka i inertnog, referentnog materijala programiranom brzinom. Mjeri se razlika dovedene energije u ispitivani i referentni uzorak kao funkcija temperature pri izlaganju kontroliranom temperaturnom programu. Količina topline (energije) koju je potrebno uzorku dovesti ili odvesti da bi se održala konstantna razlika temperatura između ispitivanog i referentnog uzorka registrira se kao pik na DSC krivulji, a ta vrijednost je u svakom trenutku ekvivalentna brzini apsorpcije ili oslobađanja energije u uzorku [30].

Uzorci su zagrijani od 25°C do 80°C brzinom zagrijavanja od 10°C/min i držani su na toj temperaturi 5 minuta da se „zaboravi“ toplinska povijest uzorka u postupku pripreve. Uzorci su nakon toga ohlađeni na -100°C brzinom od 10 °C/min. Hlađenje na niske temperature provedeno je tekućim dušikom. Iz karakterističnih pikova, te površine ispod njih, tijekom grijanja i hlađenja dobivene su vrijednosti temperaturnih prijelaza i entalpije.



Slika 12. DSC instrument Mettler Toledo DSC 822e

3.3.5. Mehanička karakterizacija

Za ispitivanje promjene u mehaničkom ponašanju elektroispredenih materijala dodatkom CEFUROXIM-a, materijali su ispitivani na dinamometru Statimat M tvrtke Textechno, slika 13. Uvjeti pri vlačnom naprežanju su: brzina istezanja od 25 mm/min, udaljenost između

stezaljki od 75 mm, te maksimalna sila od 100 N. Uzorci su testirani 3 puta s dimenzijama od 1x10 cm.

Ovaj dinamometar je prvenstveno namijenjen za ispitivanje prekidne sile i istežanja pređe i tekstilnih plošnih proizvoda. Dinamometar radi po principu konstantne brzine istežanja s rasponom od 3 do 10000 mm/min. Maksimalni razmak između stezaljki je 980 mm i uređaj za snimanje sila koristi F 10N, F 100N i F 1000N. Ispitivanje se vrši pomoću dvije pneumatski aktivirane stezaljke od kojih je gornja statična, a donja pričvršćena na klizač za rastezanje [31].



Slika 13. Dinamometar Statimat M

4. REZULTATI I RASPRAVA

U svrhu vrednovanja utjecaja količine antibiotika u polimernoj matrici na svojstva elektroispredenog materijala najprije je izvršena računalna analiza mikroskopskih slika za određivanje promjera vlakana i deformacija, površine pora, te poroznosti materijala na temelju površine, mase i debljine, a sve u ovisnosti o koncentraciji punila. Nadalje, FTIR analiza je provedena za potvrđivanje kapsulacije lijeka u polimernoj matrici, a utjecaj antibiotika na toplinska svojstva materijala pri zagrijavanju i hlađenju, te na njegovu mehaničku stabilnost utvrđena je DSC analizom odnosno testom za vlačno naprezanje materijala. Kroz prikazane rezultate istražuje se potencijalna primjenjivost elektroispredenog materijala kao sustava za prijenos lijeka unutar organizma. Rezultati su prikazani grafički i tablično.

4.1. Izgled površine elektroispredenih materijala i morfologija vlakana

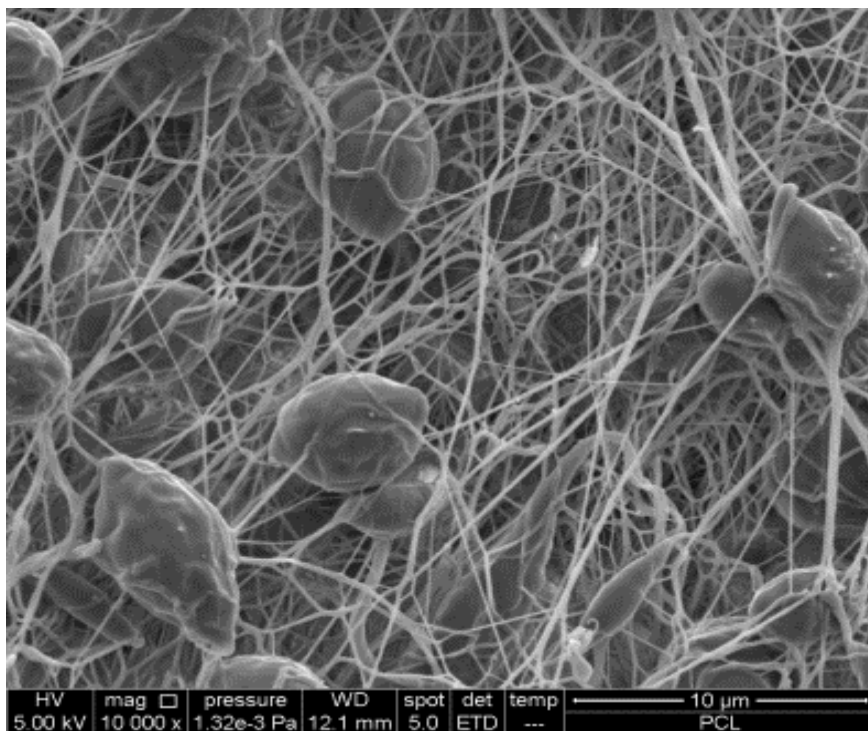
U ovom radu uspješno su pripremljeni elektroispredeni materijali s polimernom matricom polikaprolaktona (PCL) i dodatkom antibiotika kao punila, kako bi se potencijalno primjenjivali u terapiji oka. Potvrđeno je da se kod svih koncentracija antibiotika u rasponu od 0,5 do 2 % uspješno ispredaju nanovlakna, koja su nasumično pozicionirana, tvoreći nanoporoznu vlaknastu strukturu. Na slici 14 dani su: fotografija elektroispredenog čistog polikaprolaktona (PCL), te SEM mikrofotografije elektroispredenih PCL materijala bez i s različitim koncentracijama (0,5, 1, 1,5 i 2 %) antibiotika kako bi se utvrdio izgled strukture i površine materijala, te morfologija elektroispredenih nanovlakana. Na SEM slici čistog PCL-a (slika 14a) uočene su deformacije (grudice) okruglog oblika po duljini vlakana s najvećom učestalosti među svim uzorcima. Kako se povećava koncentracija antibiotika grudice prelaze iz okruglog oblika u eliptični, te postupno dolazi do smanjenja učestalosti po duljini vlakana. Kod najveće koncentracije CEFUROXIMA od 2 %, slika 14 f, uočena je najveća jednoličnost nanovlakana (monodisperzija) tj. zapažena je najmanja učestalost deformacija (grudica) ili gotovo njihovo nestajanje. To ukazuje na povećanje ukupne koncentracije mješavine polimerne matrice i punila, što je već dokazano da utječe na smanjenje broja deformacija po duljini vlakna [32]. Općenito PCL nanovlakna kod svih koncentracija antibiotika pokazuju glatku površinu, bez velikih specifičnosti poznatih kod prirodnih i umjetnih vlakana dobivenih konvencionalnim metodama. Oblik vlakana je svugdje jednakog i pravilnog cjevastog oblika različite duljine i promjera.

U medicini, tj. kod pripreme vlaknastih sustava za prijenos lijekova važnu ulogu ima i promjer vlakana, te stoga i veličina pora koji nadalje utječu na ukupnu poroznost materijala.

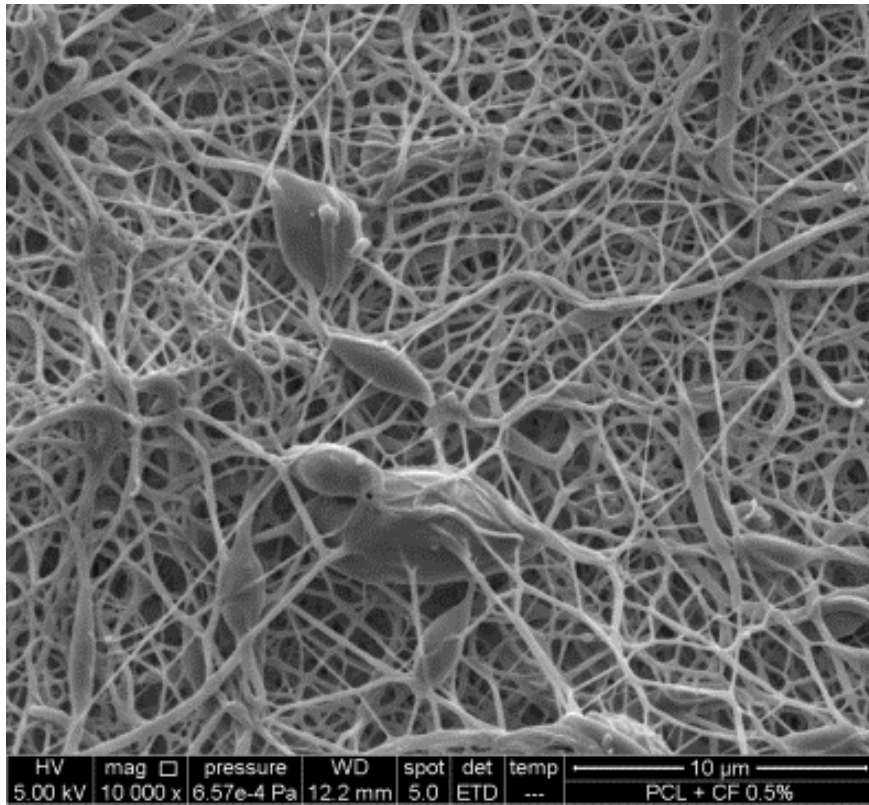
Npr. kod izrade nano/mikrovlaknastih gaza za zacjeljivanje rana, osim ciljanog otpuštanja lijeka, gaza mora imati odgovarajuću poroznost za prozračnost tj. prijenos vlage s površine kože, kako bi se spriječio razvoj bakterija i mogućih infekcija.



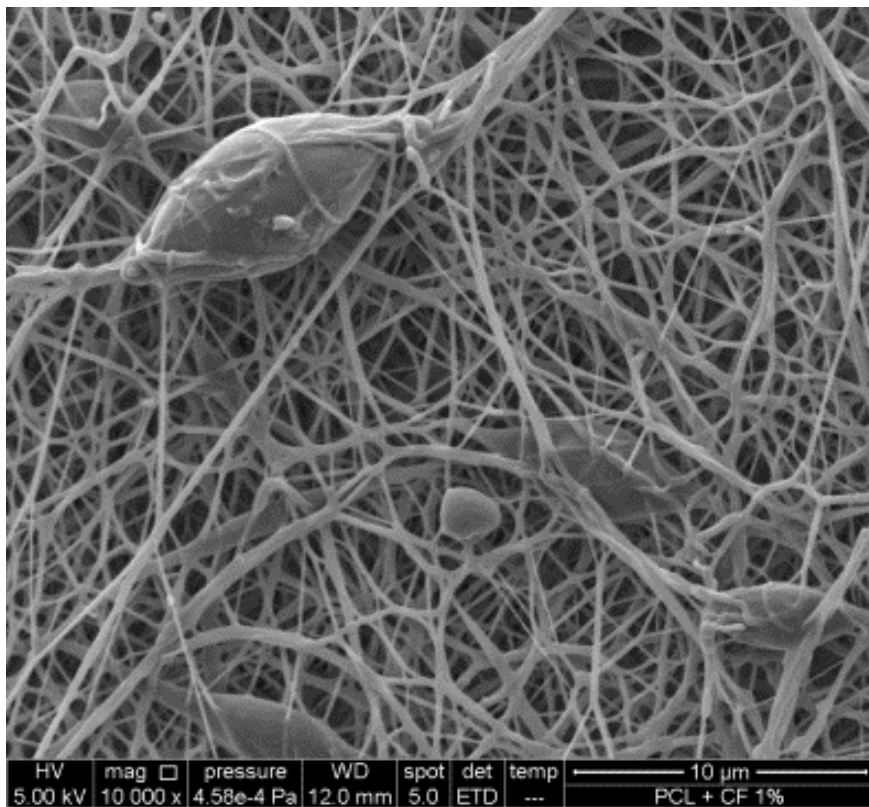
a)



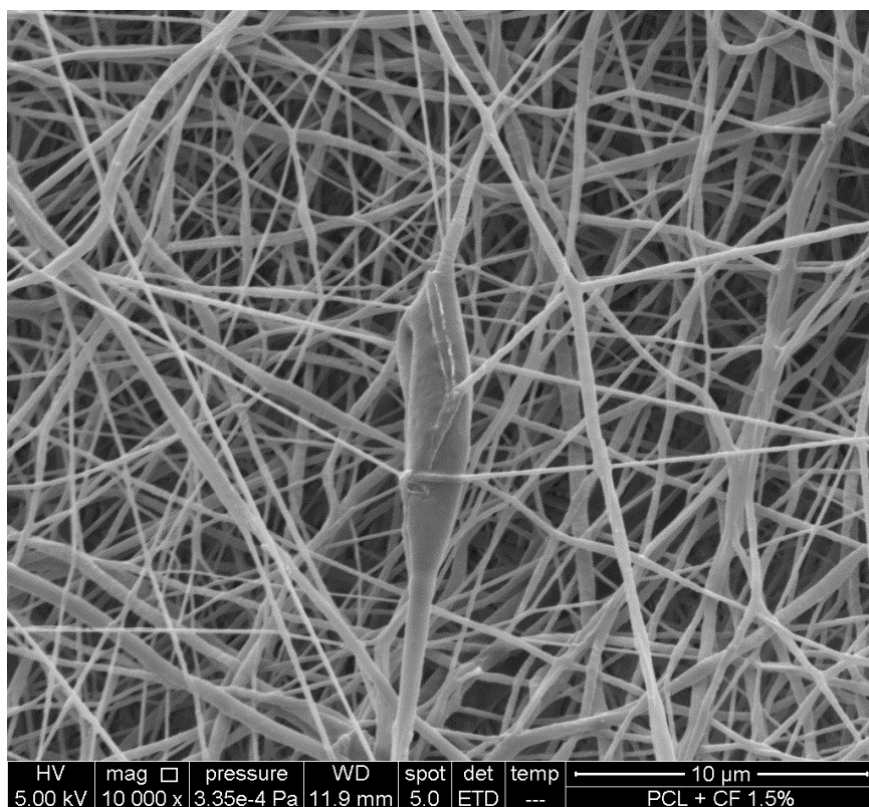
b)



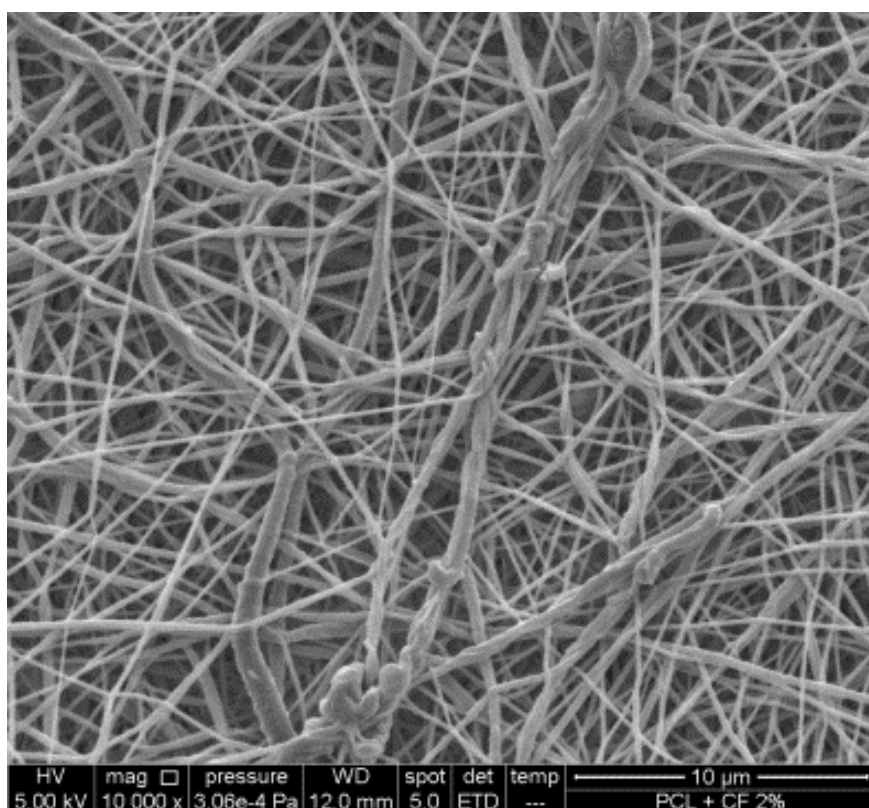
c)



d)



e)

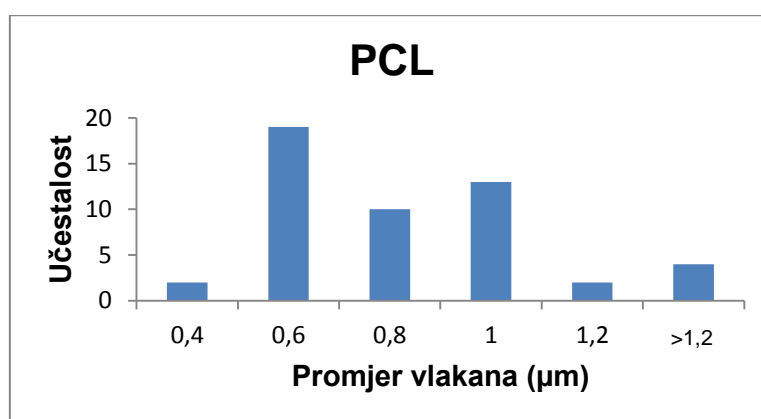


f)

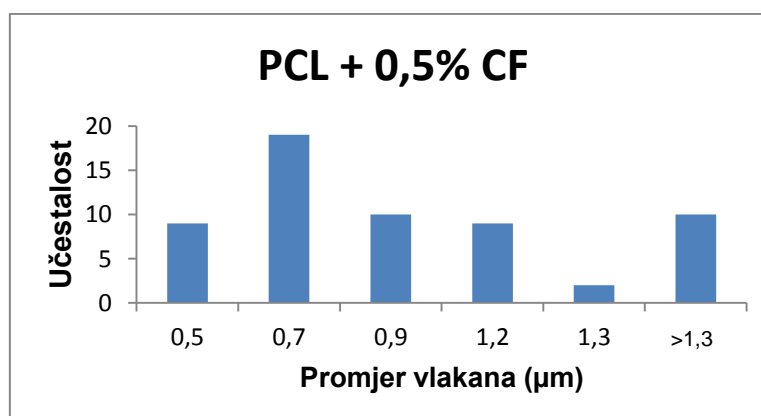
Slika 14. Fotografija i SEM slike elektrospredjenih materijala: čisti PCL (a, b), PCL+0,5% CF (c), PCL+1% CF (d), PCL+1,5% CF (e), PCL+2% CF (f), skala: 10 μm.

Slike 15-17 prikazuju grafove raspodjela promjera vlakana i grudica, te površinu pora s gornjom granicom vrijednosti kod svakog raspona.

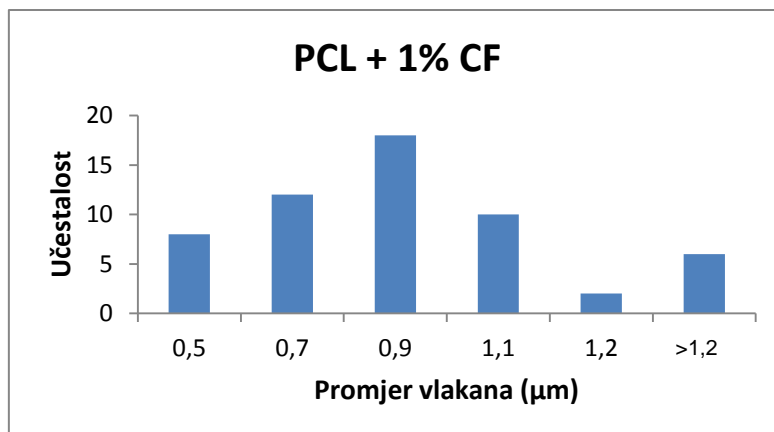
Na slici 15 (a-f) dani su histogrami raspodjele promjera vlakana kod čistog PCL-a i s različitim koncentracijama antibiotika. Raspon raspodjele vlakana općenito kod svih uzoraka je od 0,4 ili 0,5 μm do iznad 1,2 ili 1,3 μm , te mali broj nanovlakana s promjerom iznad 1,6 μm kod PCL s najvećom koncentracijom antibiotika od 2 %. Iako se raspon raspodjele vlakana sa koncentracijama antibiotika od 0,5 do 1,5 % značajno ne razlikuje, ipak prosječni promjer vlakana raste s porastom svih koncentracija antibiotika osim kod 1,5 % CF-a gdje je zabilježen suprotan utjecaj. Ovo se može pripisati i mogućoj nedovoljnoj homogenizaciji CF-a unutar polimerne matrice. Najveća koncentracija antibiotika dala je nanovlaknima srednji promjer od 0,91 μm ili 910 nm što je za 25 % više od čistog PCL-a gdje je srednji promjer oko 0,73 μm ili 730 nm, tablica 4. Premda koncentracije antibiotika od 0,5 i 1 % pokazuju slične promjere vlakana (0,87 i 0,82), najveća učestalost promjera vlakana od 0,82 μm kod 1 % je veća od najveće učestalosti kod 0,5 % gdje iznosi 0,7 μm .



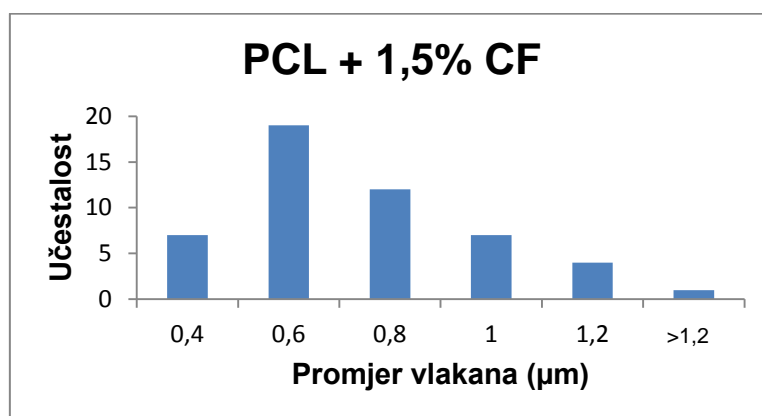
a)



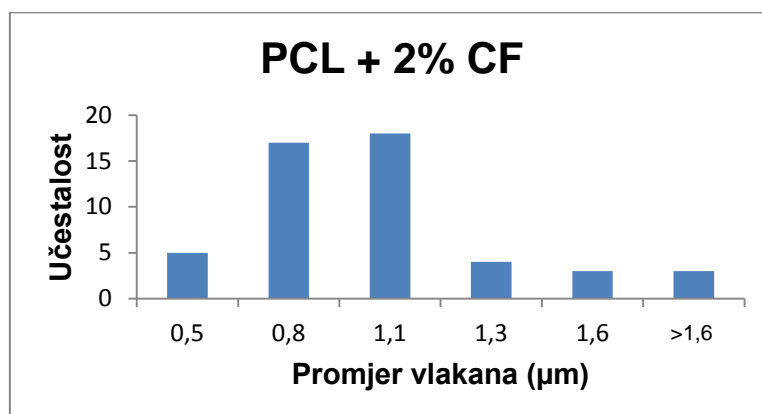
b)



c)



d)

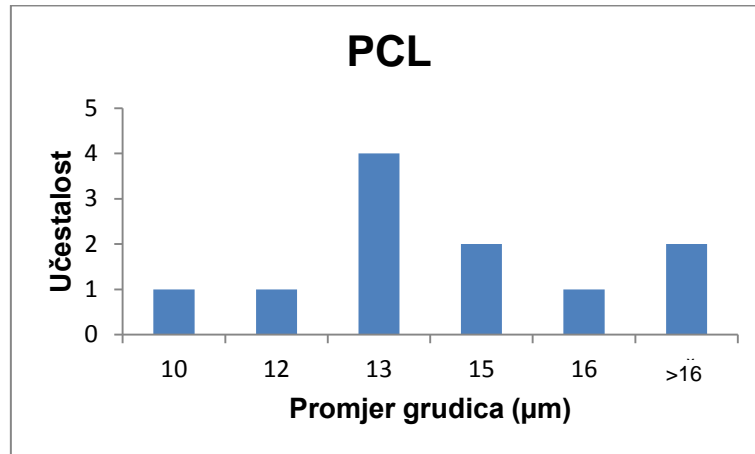


f)

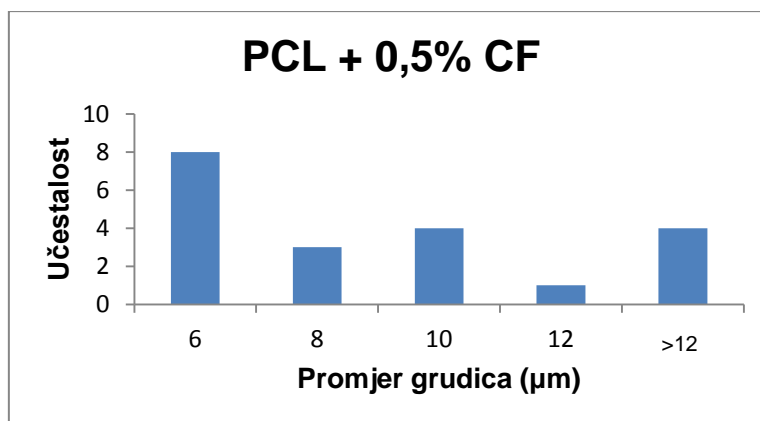
Slika 15. Raspodjela promjera vlakana elektroispredenih materijala: čisti PCL (a, b), PCL+0,5% CF (c), PCL+1% CF (d), PCL+1,5% CF (e), PCL+2% CF (f).

Na slici 16 (a-f) dani su historgami raspodjele promjera grudica ili deformacija nastalih po duljini vlakana, a što je utvrđeno ranije da je nastajanje deformacija uslijed premale koncentracije ili viskoznosti polimerne otopine [33]. Raspon raspodjele promjera deformacija kod čistog elektroispredenog PCL-a je od 10 do iznad 16 µm, te se postupno smanjuje od 6 do iznad 12 µm za PCL+0,5% CF, od 4 do iznad 10 µm za PCL+1% CF, od 1,5 do iznad 3

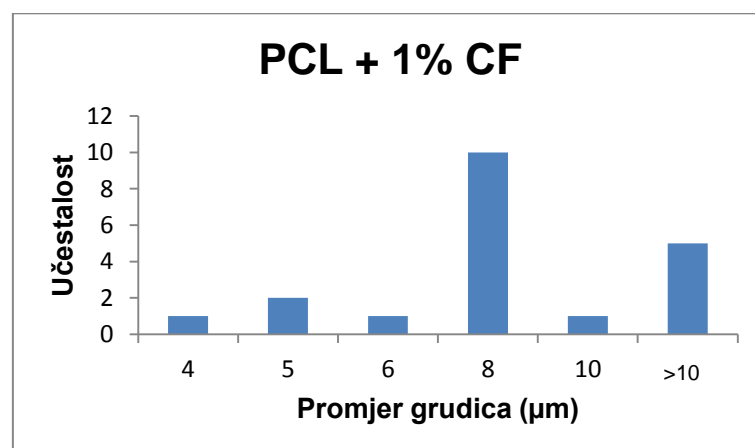
μm za PCL+1,5% CF, te za PCL+2% CF. Podaci pokazuju trend povećanja promjera deformacija (grudica) s smanjenjem koncentracije lijeka. Tj. promjer grudica se smanjio sa 13,6 μm kod čistog PCL-a do oko 5 puta kod PCL+1,5% CF, tablica 4.



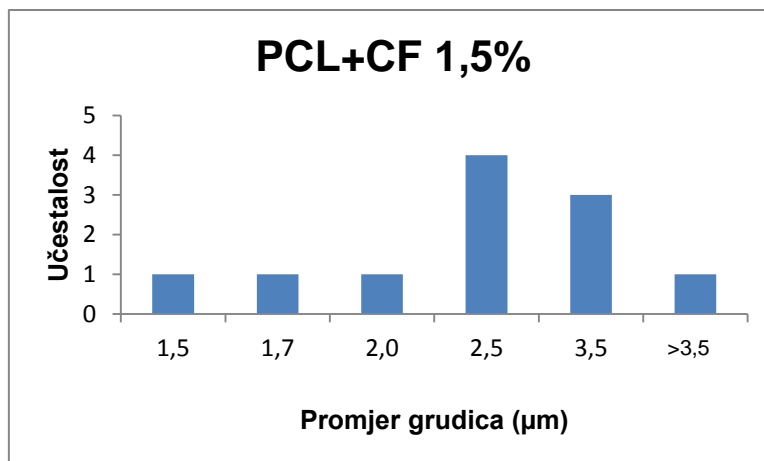
a)



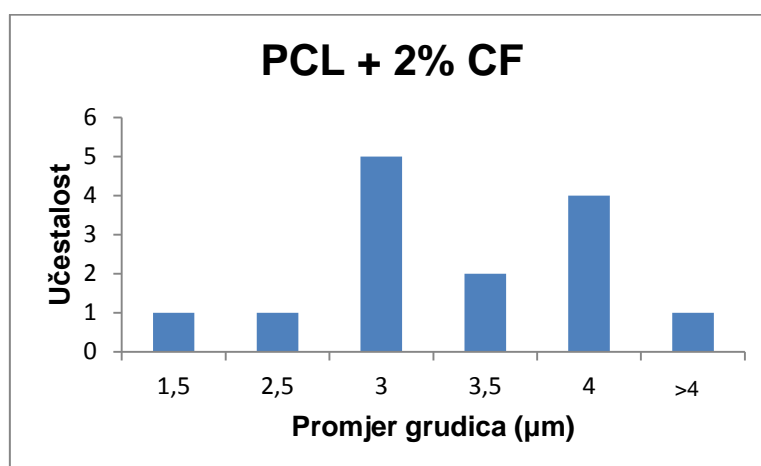
b)



c)



d)



e)

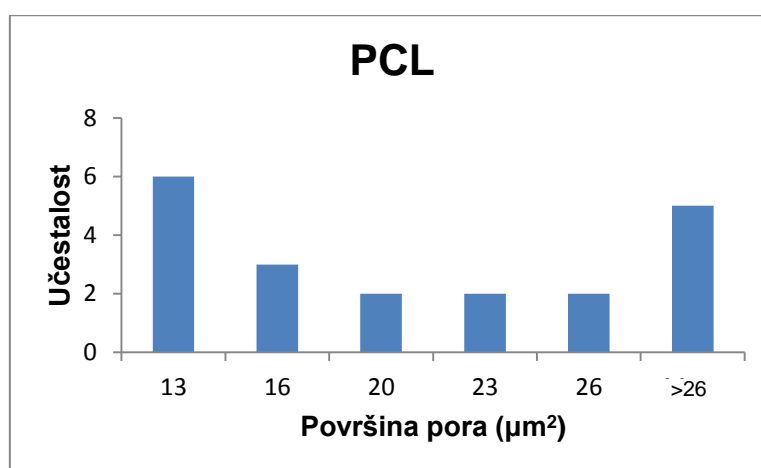
Slika 16. Raspodjela promjera grudica (deformacija) elektroispredenih materijala: čisti PCL (a, b), PCL+0,5% CF (c), PCL+1% CF (d), PCL+1,5% CF (e), PCL+2% CF (f).

Široki raspon promjera grudica za različite koncentracije sugerira slabu korelaciju maksimalne duljine vlakana i promjera vlakana. To bi moglo olakšati teoriju da prijanjanje vlakana na kolektoru ili čvrstoća vlakana imaju ograničavajući učinak na maksimalnu duljinu vlakana za PCL, relativno elastični materijal. Na uzorku čistog PCL-a promjeri grudica ali i učestalost su najveći od svih uzoraka ili za 400 % veći promjer od grudica kod PCL-a s najmanjom koncentracijom CF-a. Optimalna koncentracija bi se kretala između 1,5 % do 2,5 % lijeka ako bi se svi drugi procesni parametri optimizirali.

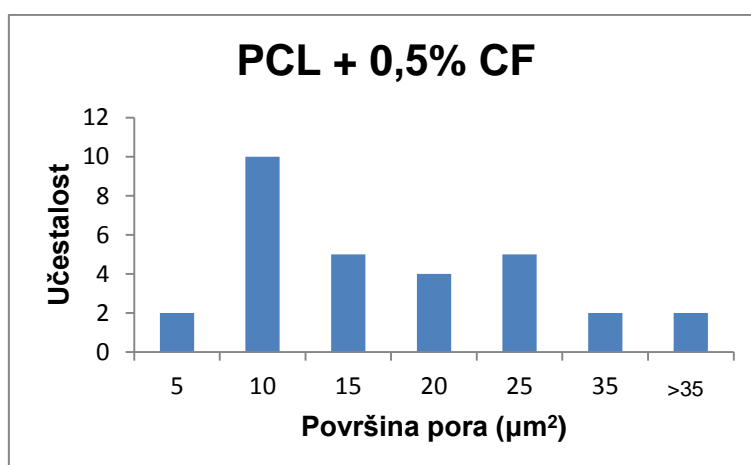
Na slici 17(a-f) dani su histogrami raspodjele površine pora kod PCL elektroispredenih materijala nastalih nasumičnim pozicioniranjem vlakana na ravnom kolektoru. Raspodjela površine pora na elektroispredenim materijalima kreće se od 13 do iznad 26 μm^2 za čisti PCL, te od 5 do iznad 35 μm^2 za PCL+0,5% CF. Vrlo sličan raspon raspodjele površine pora je kod PCL+1% CF i PCL+1,5% CF i to od oko 1,5 do iznad 5 μm^2 . Kod PCL-a s najvećom koncentracijom CF-a raspodjela površina pora je izračunata od oko 3 do iznad 15 μm^2 . Ovi

rezultati ukazuju na to da prisutnost deformacija kod manjih koncentracija CF-a rezultiraju većom površinom pora zbog veće površine deformacija koje omogućavaju formiranje rahlije pozicioniranih vlakana.

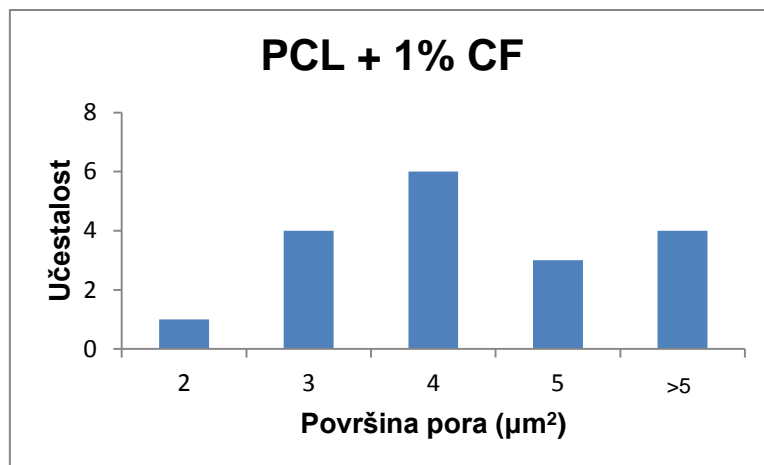
Prosječna površina pora izračunata sa SEM mikrofotografijom kod čistog PCL-a iznosila je $18,81 \mu\text{m}^2$. Iako je površina pora smanjena kod svih PCL s dodatkom antibiotika, ipak se trend opadanja mijenja s porastom prosječne površine pora kod PCL+2% CF koja je iznosila $13,98 \mu\text{m}^2$. Ovaj rezultat može ukazivati i da je ova koncentracija antibiotika granična vrijednost što bi imala za posljedicu ponovno povećanje površina pora. Vrlo malu površinu pora pokazali su uzorci s dodatkom 1 i 1,5 % CF-a i to s najmanjom od $3 \mu\text{m}^2$, što je više od 6 puta manje o odnosu na PCL s najvećom učestalosti grudica po duljini vlakana. Površina pora povezana je s rezistencijom na difuziju antibiotika i brzinom adsorpcije. Ovi rezultati ukazuju na to da bi u slučaju primjene materijala u svrhu izrade zavoja za rane najadekvatniji materijal bio onaj s najvećom površinom pora, međutim uz dodatak i odgovarajuće količine lijeka, što zahtijeva i optimizaciju svih karakteristika materijala prema terapiji.



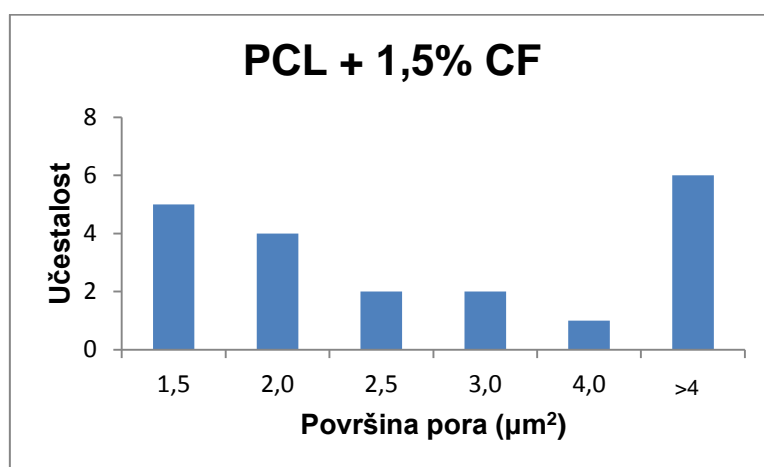
a)



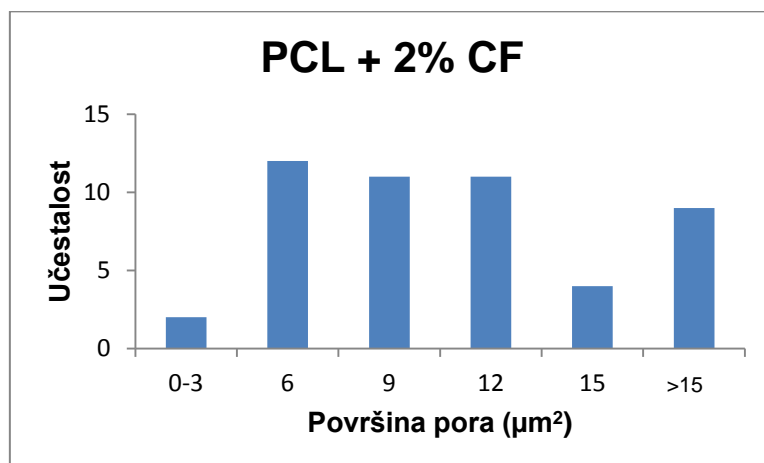
b)



c)



d)



e)

Slika 17. Raspodjela površina pora elektroispređenih materijala: čisti PCL (a, b), PCL+0,5% CF (c), PCL+1% CF (d), PCL+1,5% CF (e), PCL+2% CF (f).

Tablica 4. Srednje vrijednosti promjera i površine dobivene pomoću *Image J*

Uzorak	promjer vlakana (μm)	promjer grudica (μm)	površina pora (μm^2)
PCL čisti	0,73	13,6	18,81
PCL + 0,5 % CF	0,87	8,3	16,41
PCL + 1 % CF	0,82	8,4	4,1
PCL + 1,5 % CF	0,64	2,8	3,0
PCL + 2 % CF	0,91	3,3	13,98

4.2. Poroznost elektroispređenih PCL i PCL/CF materijala

Poroznost elektroispređenih materijala utvrđena je računski na temelju mase, površine i debljine uzorka, te gustoće polimera odnosno mješavine polimera i antibiotika, gdje je za antibiotik uzeta gustoća od $1,8 \text{ g/cm}^3$.

Tablica 5. Poroznost elektroispređenog PCL i PCL/CF

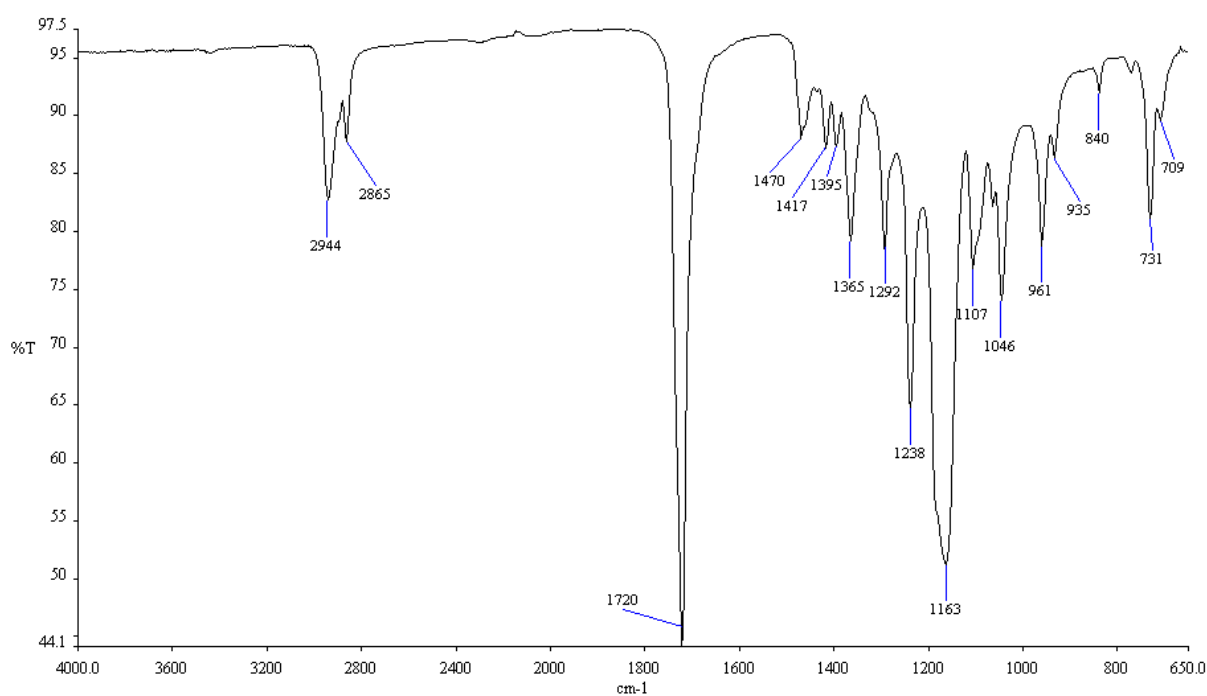
Uzorak	ρ (g/cm^3)	m (g)	A (cm^2)	h (cm)	P (%)
PCL čisti	1,145	0,0125	2,7	0,0139	71,0
PCL + 0,5 % CF	0,850	0,0083	4,0	0,0088	76,0
PCL + 1 % CF	0,830	0,0056	4,0	0,0057	75,44
TPU + 1,5 % CF	0,813	0,0109	4,0	0,0076	64,15
TPU + 2 % CF	0,797	0,0177	3,4	0,0149	65,1

Kako bi se utvrdio najbolji kandidat za prijenos lijeka unutar organizma važno je utvrditi i ukupnu poroznost materijala u ovisnosti o koncentraciji antibiotika. Najveću ukupnu poroznost pokazao je elektroispređeni PCL s najmanjom koncentracijom antibiotika i to od 76 %. Za čisti PCL izračunata poroznost iznosi 71 %, dok je najmanja poroznost izračunata za PCL s koncentracijom CF-a od 1,5 %, vrlo slična kao i kod PCL+2% CF od 65,1 %. Do 1 % CF-a utvrđena je veća, a iznad te koncentracije antibiotika manja ukupna poroznost elektroispređenog materijala.

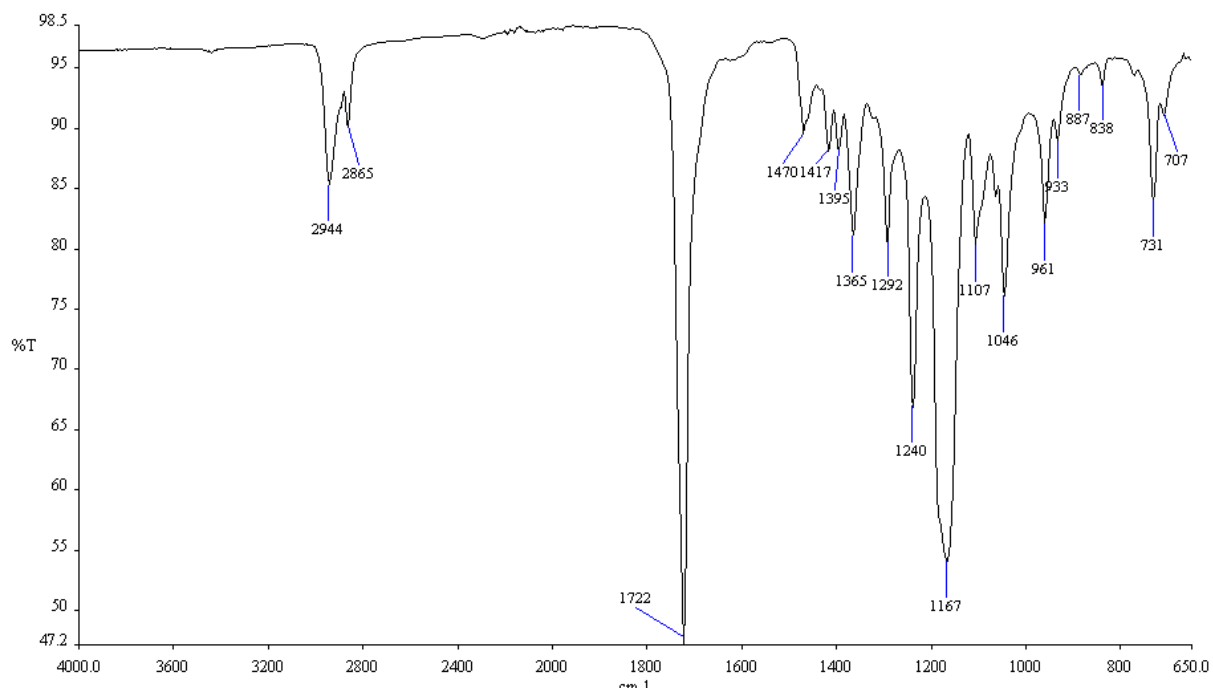
U biomedicini, tj. kod prijenosa lijekova *in vitro* ili *in vivo* poroznost materijala je važna kod različitih staničnih procesa i presudna kod difuzije hranjivih tvari i otpadnih proizvoda. U konačnici, ovisno o zahtjevima materijala moguće je kontrolirati procesne parametre ili karakteristike otopine kako bi se izvršila kontrola promjera vlakana, te naposljetku dobila i željena poroznost.

4.3. Potvrđivanje kapsulacije antibiotika u elektroispredenom PCL-u

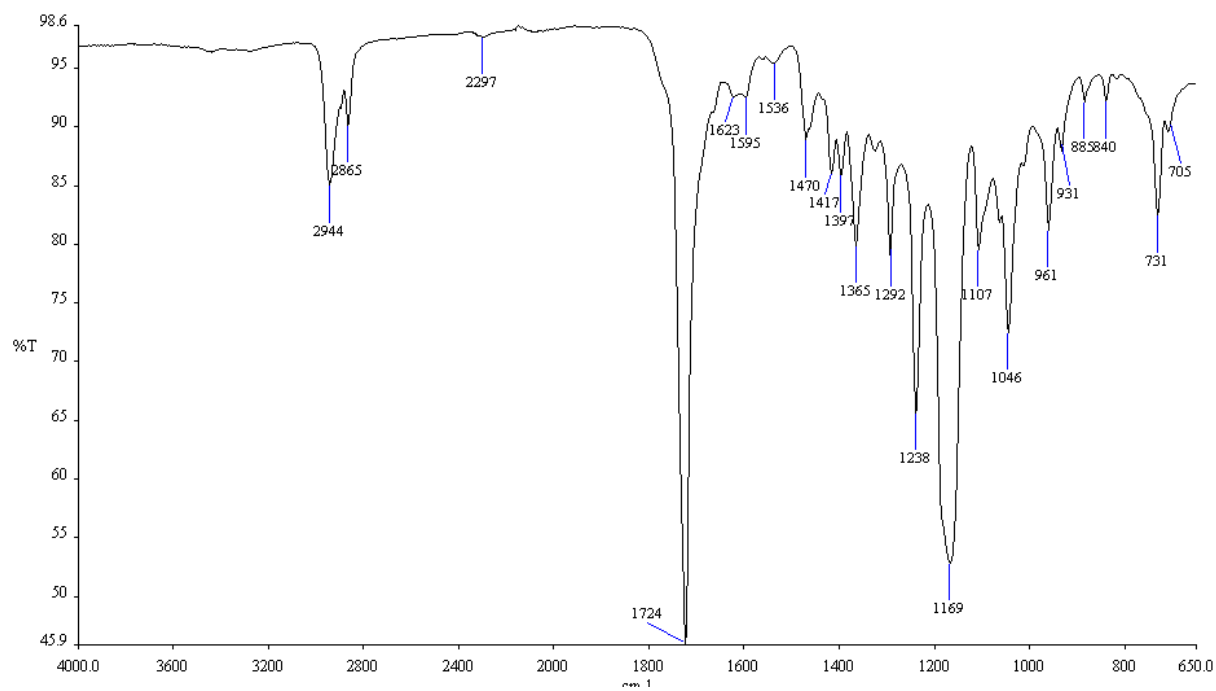
Na slici 18 i 19 dani su FTIR spektri čistog elektroispredenog polikaprolaktona i njegovih mješavina s cefuroximom pri koncentraciji punila od 0,5 i 1,5 %. Za čisti elektroispredeni PCL utvrđene su karakteristične pikove kod valnih duljina: 2944 i 2865 cm^{-1} koji odgovaraju vibracijama CH_2 skupine, 1720 cm^{-1} odgovara ester karbonilnoj skupini $\text{C}=\text{O}$ u amorfnoj fazi, 1238 cm^{-1} odgovara COO skupini u kristalnoj fazi, dok 1163 cm^{-1} odgovara CH_2 skupini [34, 35]. Na FTIR spektrama mješavine PCL-a s antibiotikom zabilježeni su novi karakteristični pikovi pri valnim duljinama od 1623, 1595 i 1536 cm^{-1} . Intenzitet pikova se povećava povećanjem koncentracije antibiotika, što potvrđuje kapsulaciju antibiotika u polimerno vlakno elektroispredenog PCL-a.



Slika 18. ATR-FTIR spekter elektroispredenog PCL-a



a)

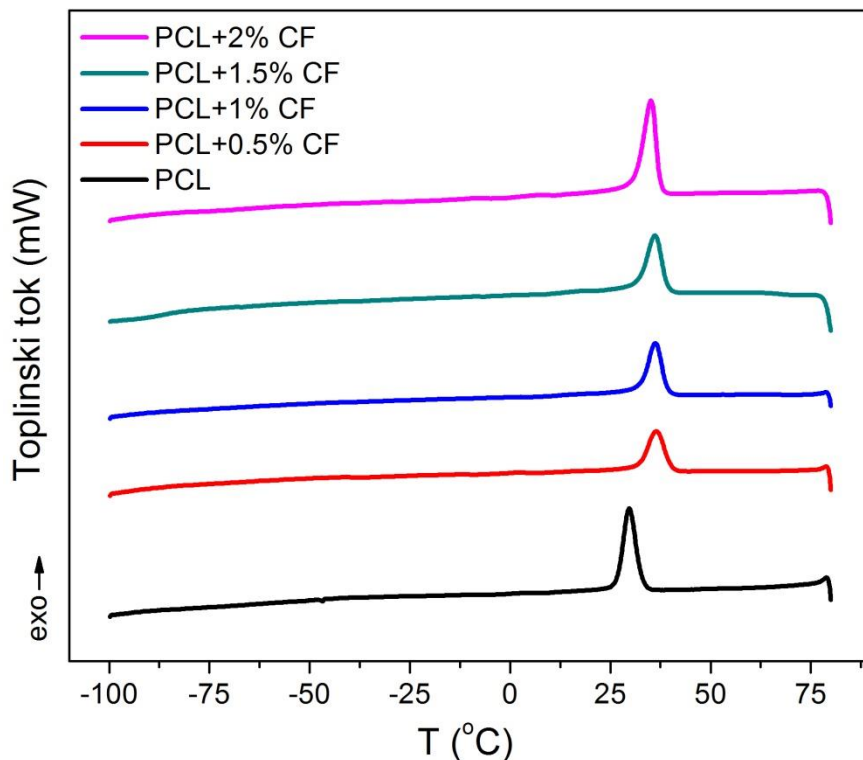


b)

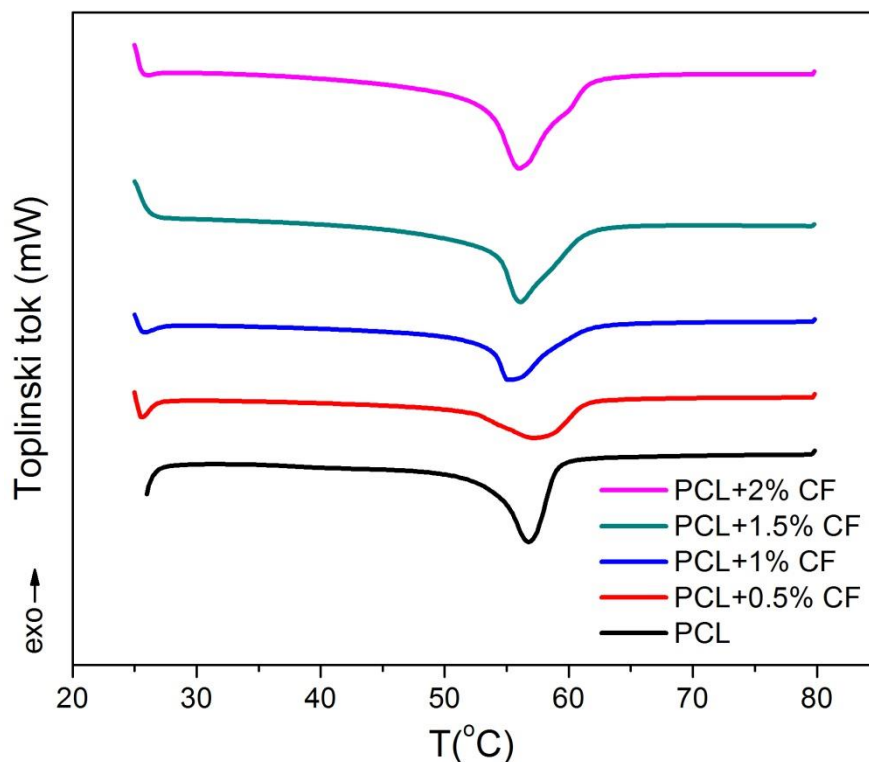
Slika 19. ATR-FTIR spektri elektroispredenog PCL+0.5% CF (a) i PCL+1,5% CF (b).

4.4. Utjecaj antibiotika na toplinska svojstva elektroispredenog PCL-a

Na slici 20 i 21 prikazani su termogrami dobivene DSC tehnikom koja se koristi za karakterizaciju toplinskih svojstava materijala, tj. za određivanje staklišta (T_g), kristališta (T_c) i tališta materijala (T_m), te odgovarajuće entalpije. Kako bi se utvrdio utjecaj lijeka, tj. Cefuroxima na promjene u karakterističnim temperaturnim prijelazima, te promjene u entalpijama tijekom taljenja i kristalizacije materijala uzorci su grijani, te hlađeni u temperaturnom rasponu od -100 do 80 °C. Vrijednosti karakterističnih temperaturnih prijelaza i entalpija dani su u tablici 6, te odgovaraju karakterističnim pikovima odnosno površini ispod krivulja za elektroispredenog PCL-a i njegovih mješavina s lijekom i to: temperaturi staklišta T_g , temperaturi taljenja T_m , temperaturi kristališta T_c , odnosno entalpiji taljenja H_m i entalpiji kristalizacije H_c .



Slika 20. Prikaz DSC krivulja kristalizacije za čisti elektroispredeni PCL, PCL+0,5% CF, PCL+1% CF, PCL+1,5% CF, PCL+2% CF.



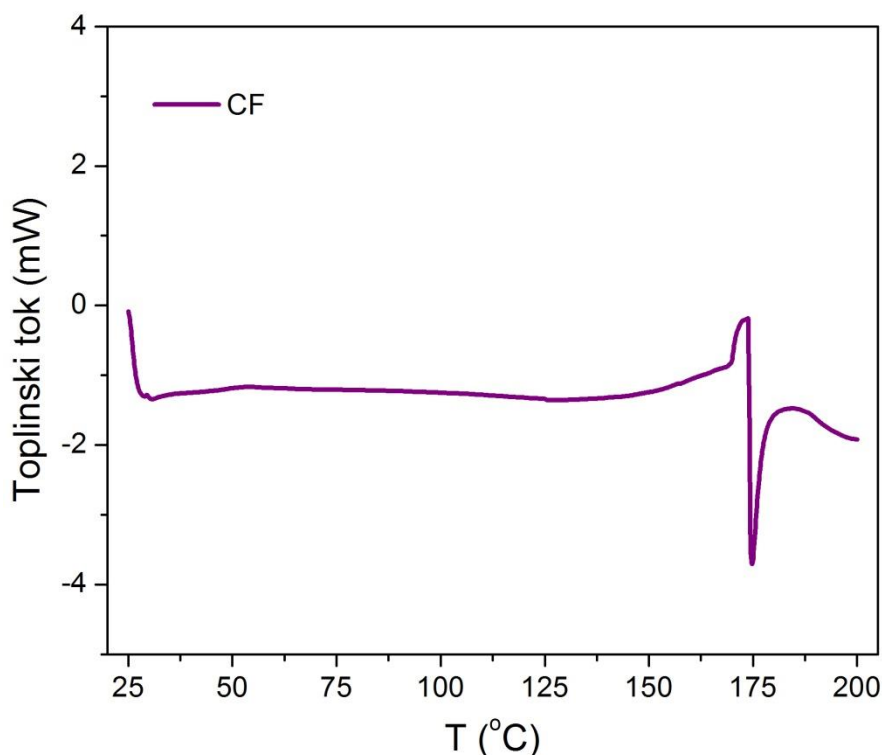
Slika 21. Prikaz DSC krivulja taljenja za čisti elektroispredeni PCL, PCL+0,5% CF, PCL+1% CF, PCL+1,5% CF, PCL+2% CF.

Tablica 7. Prikaz temperature prijelaza i entalpija taljenja i kristalizacije

Uzorak	T_m (°C)	T_c (°C)	H_m (J/g)	H_c (J/g)
PCL čisti	56,78	29,72	84,29	72,36
PCL + 0,5 % CF	57,30	36,37	47,84	40,33
PCL + 1 % CF	53,00	36,21	63,57	50,84
PCL + 1,5 % CF	56,10	36,22	73,84	46,46
PCL + 2 % CF	56,09	35,07	58,26	42,94

Na slici 22 dan je prikaz DSC termograma lijeka CEFUROXIM pri taljenju, odnosno grijanju od sobne temperature do 200 °C, kako bi se utvrdila temperatura taljenja lijeka, pri temperaturi od 174,66 °C. Pri taljenju elektroispredenog PCL-a u mješavinama s lijekom na temperaturi iznad 200 °C nije se pojavio karakterističan pik u blizini T_m lijeka (rezultat nije dan u ovom radu), te stoga DSC testiranja su sprovedena pri grijanju do 80 °C. Ovaj rezultat ukazuje na potpuno otapanje lijeka u otapala polimera, što se potvrđuje pojavom samo jednog endoternog pika u slučaju elektroispredenih mješavina. Stoga može se pretpostaviti

da se lijek smješta u kristalnu fazu PCL. U prilog tome idu i rezultati temperaturnih prijelaza i entalpija u tablici 7, odnosno promjene istih.



Slika 22. Prikaz DSC krivulja taljenja za čisti antibiotik CEFUROXIM.

Zbog istovremeno svoje kristalne i amorfne faze polikaprolakton spada u skupini polukristaliničnih polimera. Zbog elektrostatskih sila tijekom elektroispredanja koji utječu na stupanj istežanja polimernih vlakana, razina ovih faza ovisiti će i o samim parametrima u procesu elektroispredanja. Temperatura staklišta polikaprolaktona je oko $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, međutim nije jasno potvrđena kod čistog elektroispredanog PCL-a i kod njegovih mješavina s CF-om u ovom DSC testu. Dodatkom antibiotika u elektroispredeni PCL generalno utvrđena je neznatna promjena u temperaturi taljenja i to kod svih mješavina za manje od $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, osim kod PCL+1% CF gdje je zabilježeno veće smanjenje temperature s $56,78$ na $53\text{ }^{\circ}\text{C}$. Smanjenje T_m ukazuje na smanjenje uređenosti kristalne strukture PCL-a dodatkom antibiotika. Značajniji pomak u temperaturi kristalizacije zabilježen je kod svih koncentracija antibiotika i to kao povećanje T_c za više od $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ kod elektroispredanog PCL + $0,5\text{ }\%$ CFU i nešto manje kod ostalih materijala. U odnosu na toplinske entalpije u oba procesa, taljenja i kristalizacije, došlo je do smanjenje njihovih vrijednosti međutim bez trenda u odnosu na koncentracije antibiotika. Najveće smanjenje entalpije taljenja H_m i kristalizacije H_c zabilježeno je kod elektroispredanog PCL + $0,5\text{ }\%$ CFU, i to sa $84,29$ na $47,84\text{ J/g}$ i sa $72,36$ na $40,33\text{ J/g}$. Ostala smanjenja su također bila značajna u odnosu na čistog PCL-a i to do oko 30 J/g

(najviše) za najveće koncentracije antibiotika. Sukladno promjenama temperaturnih prijelaza i ovdje nije zabilježen trend opadanja vrijednosti entalpija, a to može ukazivati na neravnomjerna raspodjela antibiotika u vlaknu PCL-a. Tj. općenito veća količina antibiotika bi trebala smanjiti količinu pohranjene i otpuštene toplinske energije. Prema podacima u tablici 6 također se može utvrditi i smanjenje razlike temperature taljenja i kristalizacije što ukazuje na poboljšanje svojstva bržeg otpuštanja topline.

4.5. Utjecaj antibiotika na mehanička svojstva elektroispredenog PCL-a

Ponašanje elektroispredenih materijala pri vlačnom naprezanju utvrđena su ispitivanjem istezanja materijala s porastom sile do trenutka prekida (slika 23). Svaki uzorak je ispitan 3 puta, te je svakom izračunata i prekidna čvrstoća.



Slika 23. Vlačno istezanje elektroispredenog materijala na dinamometru

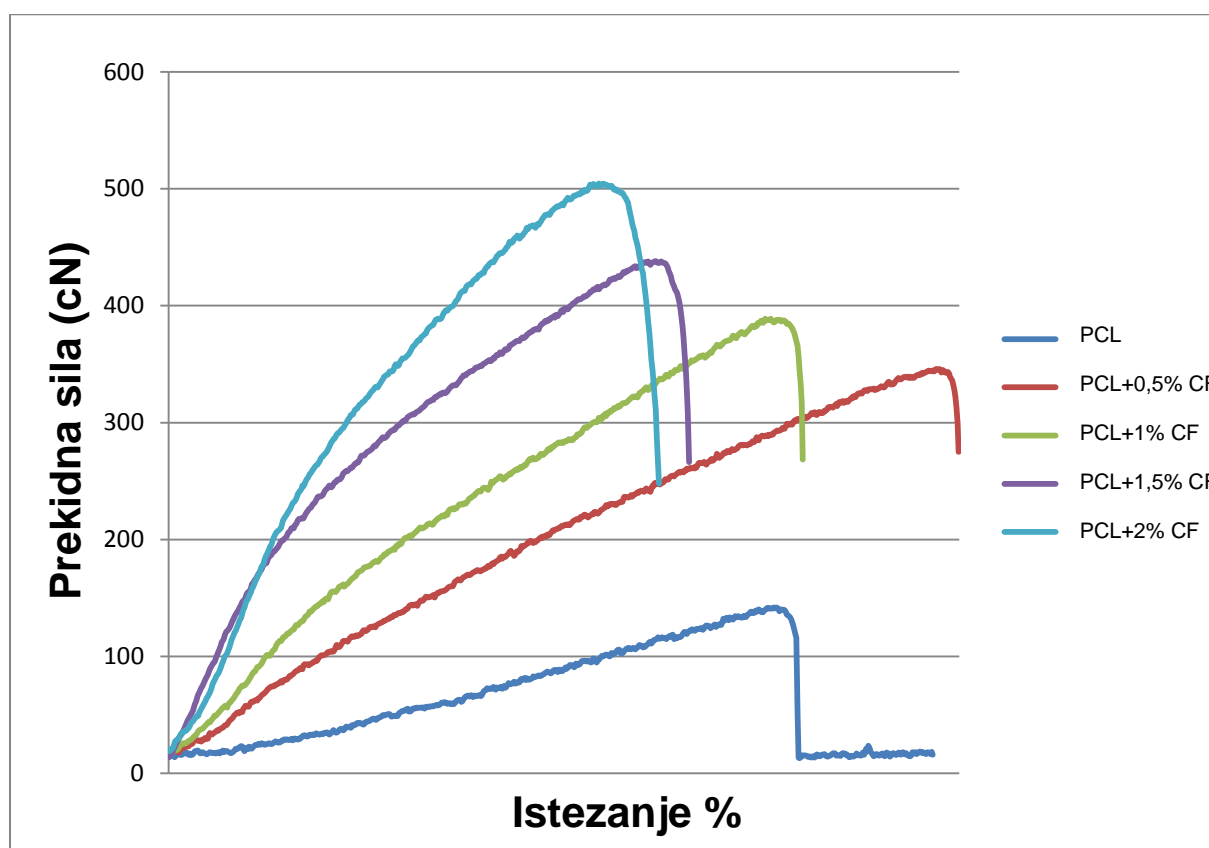
Tablica 8 daje podatke o prekidnoj sili, istezanju i izračunatoj prekidnoj čvrstoći. Podaci su uzeti za po jedno reprezentativno mjerenje od svakog uzorka. Tijekom ispitivanja materijala na dinamometru dolazilo je do klizanja materijala iz stezaljki što je relativno otežavalo samo ispitivanje. Na slici 24 dane su krivulje svakog od elektroispredenog PCL-a s i bez antibiotika tj. istezanje materijala u ovisnosti o povećanju opterećenja.

Krivulje vlačnog istezanja kod svih materijala pokazuju male prekide tijekom cijelog ispitivanja što ukazuje na izvlačenja ili klizanja vlakana unutar materijala, što se na dinamometru registrira kao manji prekid. Razlog tome može biti i varijacija u debljini materijala, što se vidi kod materijala u obliku više tankih slojeva koji također neravnomjerno kližu i pucaju tijekom istezanja. To je posljedica laboratorijskog igličnog elektroispredanja,

gdje se polimerni mlaz najviše fokusira centralno, pa su bočne strane materijala najčešće manjih debljina.

Tablica 8. Mehanička svojstva elektroispređenog PCL i PCL/CF

Uzorak	F (N)	ϵ (%)	σ (MPa)
PCL čisti	1,17	64,80	0,842
PCL + 0,5 % CF	3,46	76,27	3,932
PCL + 1 % CF	3,89	59,31	6,824
PCL + 1,5 % CF	4,38	48,43	5,763
PCL + 2 % CF	5,05	42,72	3,389



Slika 24. Istezanje elektroispređenih PCL i PCL/CF materijala u ovisnosti o povećanju sile.

Čvrstoća je važna jer određuje izdržljivost nanovlakana tj. materijala prilikom djelovanja sile i naprezanja. Najveća izmjerena vrijednost prekidne sile iznosi 5,05 N kod PCL-a s dodatkom 2 % antibiotika, dok je najmanja izmjerena kod čistog PCL-a i iznosi 1,17 N, što govori kako se prekidna sila povećava postupno s koncentracijom punila. Prekidna čvrstoća kod elektroispređenog PCL-a također raste s dodatkom antibiotika, a to se prvenstveno može

pripisati povećanju koncentracije polimerne otopine odnosno prosječne vrijednosti promjera vlakana. Najveća prekidna čvrstoća od 6,824 MPa utvrđena je kod PCL+1% CF i to 8 puta veća od čistog PCL-a, dok je najmanje povećanje čvrstoće i to 4 puta utvrđeno kod PCL+2% CF.

Suprotan trend ili opadanje istezanja elektrosipredjenih materijala utvrđen je povećanjem koncentracije antibiotika u polimernoj matrici, uz iznimku kod najmanje koncentracije gdje je materijal pokazao povećanje istezanja s 64,80 % na 76,27 % u odnosu na čisti PCL. Najmanje istezanje utvrđeno je od 42 %. Iznimke u trendu ponašanja materijala u ovisnosti o koncentraciji antibiotika svakako se može pripisati učinkovitosti kapsulacije punila tj. ravnomjernoj raspodjeli punila pri otapanju u polimernoj otopini.

5. ZAKLJUČAK

Ispitivanje kompatibilnosti polikaprolaktona i odabranog antibiotika, te utjecaj količine punila na svojstva elektroispredenog materijala provedeno je kroz nekoliko metoda karakterizacije temeljene na modernim analizama različitih tehnologija. Dokazana je opravdanost istraživanja primjenjivosti elektroispredenih nanovlakana iz polikaprolaktona za izradu sustava prijenosa lijeka unutar organizma, o kojima se u svijetu mnogo istražuje poglavito na područjima tkivnog inženjerstva i razvoja obloga za zacjeljivanja rana. Područje primjene prijenosa lijeka za terapiju oka uglavnom je u svijetu nedovoljno istraženo što otvara vrata novim saznanjima i dosezima.

Iz dobivenih rezultata i analiza istih utvrđeno je:

- koncentracija antibiotika utječe na morfološka svojstva materijala, odnosno povećanjem koncentracije dolazi po povećanja promjera vlakana, smanjenja promjera grudica, te se oblik grudica mijenja iz okruglog u eliptični. Površina pora se značajno smanjuje dodatkom 1 i 1,5 % cefuroxima.
- povećanjem koncentracije antibiotika dolazi do povećanja ukupne poroznosti materijala do koncentracije od 1%, dok nakon nje dolazi do suprotnog efekta.
- FTIR analizom potvrđena je uspješna kapsulacija antibiotika u elektrosipredeno vlakno polikaprolaktona.
- kompatibilnost polimera i antibiotika potvrđena je DSC analizom s pojavom jednog karakterističnog temperaturnog prijelaza pri taljenju i kristalizaciji materijala. Dodatkom antibiotika smanjuje se entalpija taljenja i kristalizacije ali koncentracija antibiotika nije pokazala postupan utjecaj na polimernu matricu.
- povećanjem koncentracije antibiotika postupno se povećava prekidna sila kod vlačnog naprezanja materijala, što rezultira i povećanjem prekidne čvrstoće s najvećom izmjerenom od 6,824 MPa.

Ovi rezultati ukazuju na važnost viskoznosti ili koncentracije polimerne otopine i njezinog utjecaja na morfologiju i mehaniku, ali i vrsta punila na toplinska svojstva elektroispredenog materijala.

6. ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoru red. prof. dr. sc. Budimiru Mijoviću, na ukazanom povjerenju i podržavanju prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se neposrednoj voditeljici dr. sc. Emiliji Zdravevi, na pruženom strpljenju, ljubaznosti, nesebičnoj pomoći i svom uloženom trudu tijekom ovog projekta.

Zahvala red. prof. dr. sc. Zenunu Skenderiju i Aleni Mudrovčić dipl. ing. sa Zavoda za projektiranje i menadžment tekstila, Tekstilno-tehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu, na svim savjetima i uputama.

Zahvala red. prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić i asistentici Ani Peršić, dipl. ing. na Zavodu za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, na ukazanoj pomoći i ljubaznosti.

Zahvala Tei Zubin Ferri sa Centra za istraživanje materijala Istarske županije METRIS u Puli, za elektronsko mikroskopsko snimanje.

Hvala obitelji i prijateljima na nepresušnoj razmjeni znanja, životnih lekcija i podršci.

7. POPIS LITERATURE

1. Llorens Domenjó, E., Advanced Electrospun Scaffolds based on Biodegradable Polylactide and Poly(ButyleneSuccinate) for Controlled Drug Delivery and Tissue Engineering, Universitat Politècnica de Catalunya, Departament d'Enginyeria Química, 2014.
2. Norton, C. L., Method and apparatus for producing fibrous or filamentary material, U.S. Patent 2,048,651, 1936.
3. Taylor, G., Disintegration of Water Drops in an Electric Field,. Proceedings of Royalsociety A, 1964.
4. Doshi, J., Reneker, D. H., Electrospinning process and applications of electrospun fibers, Journal of electrostatics, 1995.
5. Ramakrishna, S. i sur., Electrospun nanofibers: solving global issues, Materials today, 2006.
6. Dostupno na: <http://electrospintech.com/WETeo-profile.html>, posjećeno: 2017-12-04
7. Dostupno na: <http://www.yflow.com/electrospinning-machine/professional-electrospinning-machine-packs/>, Posjećeno: 2017-12-04
8. Dostupno na: http://www.hirose-paper-mfg.co.jp/english/pdct_nanofiber.html, Posjećeno: 2017-12-04
9. Persano, L., i sur., Industrial Upscaling of Electrospinning and Applications of Polymer Nanofibers: A Review, Macromolecular materials and engineering, 2013.
10. Dostupno na: <http://www.kilwell.co.nz/products/category/VRSRTGQE-fly/XTU9064>, Posjećeno: 2017-12-04
11. Bhardwaj, N. i sur., Electrospinning a fascinating fiber fabrication technique, Biotechnology Advances, 2009.
12. Thandavamoorthy, S. i sur., Electrospinning of Nanofibers, Journal of applied polymer science, 2004.
13. Afshari, M., Electrospun Nanofibers, 1st Edition, Woodhead Publishing, 2016., ISBN: 9780081009116.
14. Zhenyu, L. i sur., One-Dimensional nanostructures Electrospinning Technique and Unique Nanofibers, Poglavlje 2: Effects of Working Parameters on Electrospinning, Springer, 2013., ISBN 978-3-642-36426-6.
15. Karageorgiou, V., Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis, Biomaterials, 2005.
16. Kostakova, E. i sur., Study of polycaprolactone wet electrospinning process, eXPRESS, Polymer Letters, 2014.

17. Park Suk, H., Development of Three Dimensional Scaffolds containing Electrospun Nanofibers and their Applications to Tissue Regeneration, magisterski rad, College of engineering, South Korea, 2011.
18. Espinal, L., Porosity and Its Measurement, Characterization of Materials, Wiley online library, 2012.
19. Katzung, B., Temeljna i klinička farmakologija. 11. izdanje, McGraw Hill, New York, 2011.
20. Ignatious, F. i sur., Electrospun nanofibers in oral drug delivery, 2010.
21. Deng-Guang Yu, Electrospun nanofiber-based drug delivery systems, Pharmaceutical Research, 2009.
22. Han, J. i sur., Electrospun shikonin-loaded PCL/PTMC composite fiber mats with potential biomedical applications, International Journal of Pharmaceutics, 2009.
23. Ranganath, Sudhir H., Biodegradable microfiber implants delivering paclitaxel for post-surgical chemotherapy against malignant glioma, Biomaterials, 2008.
24. Dostupno na: <http://www.livescience.com/48747-eye-infections-contact-lenses.html>, Posjećeno: 2017-15-04
25. Dostupno na: <http://www.krenizdravo.rtl.hr/korisno/upute/novocef-tablete-500-mg-uputa-o-lijeku>, Posjećeno: 2017-15-04
26. Dostupno na: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/bolesti-ociju/poremecaji-zilne-ovojnice-oka/endoftalmitis>, Posjećeno:2017-15-04
27. Yorston, D., Using intracameral cefuroxime as a prophylaxis for endophthalmitis, Community Eye Health, 2008.
28. Dostupno na: <http://labsoft.pl/en/produkt/quanta/>, Posjećeno:2017-24-04
29. Dostupno na: Caltech.edu, <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf>, Posjećeno: 2017-24-04
30. Paić, A., Određivanje toplinskih karakteristika mješavina poli(3 hidroksibutirat)/poli(etilen-oksidi), diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilišta u Splitu, 2010.
31. Dinamometar za pređu i plošne proizvode, dostupno na: <http://www.ts-rc.eu>, Posjećeno: 2017-22-04
32. Fong, H., i sur., Beaded nanofibers formed during electrospinning. Polymer, 1999.
33. Zhou, S., i sur., Biodegradable poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system, Biomaterials, 2003.
34. Shoja, M.; Shambeli, K.; Ahmad, M. B.; Kalantari, K. Dig. J. Nanom. Biost. 2015, 10, 169.

SAŽETAK

Utjecaj količine antibiotika na svojstva elektroispredenog polikaprolaktona kao podloge za kontroliranu terapiju oka

Tonko Čipčić

Uporaba elektroispredenih nanovlaknastih materijala u ciljanom otpuštanju lijekova pokazuje poboljšanje u odnosu na konvencionalne metode uzimanja lijekova stoga ima potencijalni doprinos učinkovitijem i uspješnijem liječenju različitih bolesti. Područje primjene otpuštanja lijeka za terapiju oka je u svijetu nedovoljno istraženo što otvara vrata novim saznanjima i dovezima i ovoga rada. Stoga je u radu istražen utjecaj količine antibiotika Cefuroxim na svojstva elektroispredenog polikaprolaktona (PCL) kako bi se primijenio u sprečavanju infekcija oka nakon kirurškog zahvata. Nakon uspješne ugradnje lijeka u polimernu matricu, ovisnost o koncentraciji Cefuroxima utvrđena je za morfološke karakteristike, poroznost, toplinska i mehanička svojstva elektroispredenog PCL-a. Utvrđeno je da se promjer nanovlakana povećava, promjer grudica ili deformacija se smanjuje povećanjem koncentracije lijeka, dok se poroznost povećava do određene koncentracije, te nakon toga pokazuje suprotan trend. Dodatak svih koncentracija lijeka rezultira većom prekidnom čvrstoćom od čvrstoće kod čistog PCL-a, s najvećom od 6,824 MPa. Promjene nastale kod toplinskih svojstava materijala ukazuju na kompatibilnost polimera i punila, a dodatak lijeka rezultira smanjenjem entalpija. U konačnici izbor koncentracije cefuroxima uz optimizaciju parametara kod elektroispredanja omogućava izradu elektroispredenog materijala prema potrebama u terapiji oka.

Ključne riječi: elektroispredanje, PCL, Cefuroxim, morfologija, toplinska svojstva, mehanička svojstva.

SUMMARY

Influence the antibiotic amount on electrospun polycaprolactone properties as a support for controlled eye therapy

Tonko Čipčić

The use of electrospun nanofibrous materials in targeted drug release shows an improvement over conventional drug consuming methods and therefore has a potential contribution to more effective and more successful treatment of various diseases. The field of application of drug release for eye therapy is less explored, which opens the door to new findings and contribution of this work as well. Therefore, the effect of the antibiotic Cefuroxim on the properties of electrospun polycaprolactone (PCL) has been investigated in order to be used in the prevention of eye infections after a surgical procedure. After the successful incorporation of the drug into the polymer matrix, the dependence of Cefuroxim concentration was determined for the morphological characteristics, porosity, thermal and mechanical properties of the electrospun PCL. It was found that the diameter of the nanofibers increases, the diameter of the beads or deformations is reduced by increasing the drug concentration, while the porosity increases to a certain concentration, and thereafter shows an opposite trend. The addition of all drug concentrations results in a higher breaking strength compared to the breaking strength of the pure PCL, with a maximum value of 6,824 MPa. Changes in the thermal properties of the material indicate the compatibility of the polymer and the filler, while added the drug results in the enthalpy reduction. Finally, the choice of cefuroxime concentration with optimization of electrospinning parameters allows the production of electrospun material according to the needs in eye therapy.

Keywords: *electrospinning, PCL, Cefuroxim, morphology, thermal properties, mechanical properties.*

ŽIVOTOPIS

Tonko Čipčić

Rođen je u Zagrebu, 05.04.1992. godine. Nakon završene Ekonomske škole u Zagrebu 2011. godine, upisuje preddiplomski studij na Tekstilno-tehnološkom fakultetu, smjer: Projektiranje i menadžment tekstila, kao redovan student uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske. U okviru aktivnosti vezanih uz popularizaciju znanosti sudjeluje na: 9. znanstveno-stručnom savjetovanju Tekstilna znanost i gospodarstvo s znanstvenim radom na temu: „Računalna konstrukcija uzornice pomoću matrica“, kao jedan od troje autora. 2015. godine sudjeluje na na sajmu ITMA u Milanu uz aktivno sudjelovanje u popratnim programima izložbe. ITMA je najveća svjetska međunarodna izložba tekstilnih strojeva i opreme. U dogovoru s profesorom i diplomiranim studentom Tekstilno-tehnološkog fakulteta, 2016. godine odrađuje uspješno jednomjesečnu praksu u tvornici čarapa Jadran d.d. gdje usvaja nova znanja i vještine. Trenutno je student druge godine diplomskog studija Tekstilna tehnologija i inženjerstvo, s prosjekom ocjena 3,6.