

KOFEINA JAKO CZYNNIK MODYFIKUJĄCY HYDROŻELE AKRYLOWE

BOŻENA TYLISZCZAK¹, SONIA KUDŁACIK-KRAMARCZYK^{2*},
ANNA DRABCZYK²

¹ KATEDRA CHEMII I TECHNOLOGII POLIMERÓW,
POLITECHNIKA KRAKOWSKA IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI,
UL. WARSZAWSKA 24, 31-155 KRAKÓW

² INSTYTUT CHEMII I TECHNOLOGII NIEORGANICZNEJ,
POLITECHNIKA KRAKOWSKA IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI,
UL. WARSZAWSKA 24, 31-155 KRAKÓW

*E-MAIL: SKUDLACIK@CHEMIA.PK.EDU.PL

Streszczenie

Hydrożele są materiałami zbudowanymi z łańcuchów polimerowych, które tworzą trójwymiarową i usieciowaną strukturę. Mają one bardzo dużą zdolność do pochłaniania wody, stąd też bardzo często są nazywane superabsorbentami. Inne cechy charakteryzujące hydrożele to elastyczność oraz nietoksyczność. Poprzez swoje właściwości hydrożele są często stosowane w inżynierii tkankowej, układach dostarczania leku czy w opatrunkach hydrożelowych. Celem pracy była ocena wpływu modyfikacji matrycy polimerowej kofeiną na właściwości i strukturę hydrożeli, natomiast zakres pracy obejmował syntezę i modyfikację matrycy polimerowej oraz badania inkubacyjne *in vitro*, spektroskopowe i fizykochemiczne. W pracy zostały przeprowadzone i omówione badania hydrożeli modyfikowanych różną zawartością kofeiny. Hydrożele zostały poddane badaniom sprawdzającym ich zdolność absorpcyjną w roztworach składem przypominającym płyny ustrojowe organizmu ludzkiego. Przeprowadzono również badania zachowania się hydrożeli w płynach ustrojowych jakimi były woda destylowana, płyn Ringera i sztuczna ślina. Na podstawie przeprowadzonych badań można wstępnie stwierdzić, że otrzymane materiały nie powodują zmian pH roztworów, w których są inkubowane. Ponadto, uwalniają one wprowadzoną do ich struktury kofeinę. Tak otrzymane wyniki, pozwalają stwierdzić, że materiał otrzymany przy pomocy fotopolimeryzacji na bazie kwasu akrylowego może znaleźć zastosowanie w takich dziedzinach jak medycyna czy kosmetologia.

Słowa kluczowe: hydrożele, kofeina, badania inkubacyjne, spektroskopia FT-IR

[Inżynieria Biomateriałów 142 (2017) 17-24]

Wprowadzenie

Hydrożele są materiałami polimerowymi, które cieszą się w ostatnich latach bardzo dużą popularnością. Powodem tego są ich specyficzne cechy, między innymi elastyczność, możliwość bardzo szybkiego pochłaniania wody i innych roztworów w sposób odwracalny, bardzo duża aktywność biologiczna z płynami ustrojowymi organizmu ludzkiego oraz biodegradowalność [1-3]. Dzięki swoim unikalnym cechom hydrożele znalazły szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach życia takich jak farmacja, rolnictwo, medycyna czy inżynieria tkankowa [4-6].

CAFFEINE AS A MODIFYING AGENT IN ACRYLIC HYDROGELS

BOŻENA TYLISZCZAK¹, SONIA KUDŁACIK-KRAMARCZYK^{2*},
ANNA DRABCZYK²

¹ DEPARTMENT OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF POLYMERS,
CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
WARSZAWSKA 24, 31-155 KRAKOW, POLAND

² INSTITUTE OF INORGANIC CHEMISTRY AND TECHNOLOGY,
CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
WARSZAWSKA 24, 31-155 KRAKOW, POLAND

*E-MAIL: SKUDLACIK@CHEMIA.PK.EDU.PL

Abstract

Hydrogels are materials created by polymer chains, that form a three-dimensional and crosslinked structure. These polymers are characterized by a very high sorption capacity, therefore they belong to the group of substances known as superabsorbents. Due to their properties hydrogels are often used in tissue engineering, drug delivery systems and as components of modern wound dressings. The aim of the study is to evaluate the effect of introduction of caffeine into the polymer matrix on the properties and structure of hydrogels. The scope of work included the synthesis and modification of the polymer matrix as well as studies on such prepared materials. Research involved *in vitro* incubation, spectroscopic analysis, studies on degradation and characterization of other physico-chemical properties. In this article series of hydrogels based on acrylic acid and modified with different amount of caffeine have been synthesized. The sorption capacity of obtained hydrogels in the liquids with compositions similar to the human body fluids has been tested. The stability of synthesized materials in simulated body fluids such as Ringer's solution and artificial saliva has also been analysed. Based on conducted research it can be said that prepared materials do not change pH value of a liquid in which they are immersed. What is more, they are able to release entrapped caffeine. On the basis of such results it can be concluded that proposed acrylic acid based materials obtained by means of photopolymerization can be used in such areas as medicine or cosmetology.

Keywords: hydrogels, caffeine, incubation studies, FT-IR spectroscopy

[Engineering of Biomaterials 142 (2017) 17-24]

Introduction

Hydrogels are polymeric materials which become more and more popular in recent years. The reason for this are their specific features such as flexibility, ability to absorb water and other liquids quickly and in a reversible manner, a very high biological activity in contact with the human body fluids and often biodegradability [1-3]. Due to their unique features hydrogels are widely used in many areas such as pharmacy, agriculture, medicine and tissue engineering [4-6].

Interesującą cechą materiałów hydrożelowych jest możliwość ich modyfikacji poprzez wprowadzenie do matrycy hydrożelowej związków zarówno pochodzenia naturalnego, jak i syntetycznego. Taki dodatek może wpłynąć na właściwości fizykochemiczne hydrożeli polimerowych, tj. ich zdolności sorpcyjne czy również właściwości mechaniczne. Należy jednak zaznaczyć, że wprowadzenie dodatkowej substancji do wnętrza materiału hydrożelowego niekoniecznie zmienia właściwości chemiczne, a jedynie wpływa na zwiększenie spektrum jego potencjalnych zastosowań. Rolę dodatku mogą pełnić różnego rodzaju substancje aktywne takie jak np. kofeina, ale również ekstrakty roślinne (np. ekstrakt z szalwii czy rumianku), czy różne nanomateriały [7-9].

Celem pracy było zsyntezowanie hydrożelu, w którym matryca polimerowa została zmodyfikowana kofeiną. Połączenie hydrożelu z kofeiną wydaje się być bardzo ciekawym rozwiązaniem, który może znaleźć dość szerokie zastosowanie w medycynie bądź farmacji, ze względu na właściwości zarówno hydrożeli, jak i kofeiny. Kofeina jest związkiem, który można pozyskiwać z nasion kawy czy herbaty, a wyekstrahowana może być używana do wielu celów leczniczych, między innymi do leczenia bólu głowy czy nadwagi [10-12]. Kofeina jest materiałem szeroko stosowanym w kosmetyce np. do zmniejszania cieni pod oczami, czy do walki z cellulitem. Ponieważ, kofeina jest często spożywana głównie w postaci kawy, leków przeciwbólowych czy Coca-Coli, to należy brać pod uwagę jej różnorodne spektrum działania i zwracać uwagę na ilość, w jakiej występuje w przyjmowanych produktach. Może ona wywierać również negatywny wpływ na organizm ludzki przy przekroczeniu dopuszczalnej dawki [13-15].

Materiały i Metody

Materiały

Kwas akrylowy (AA), wodorotlenek potasu (KOH) i kofeina zostały pozyskane z firmy POCh Gliwice, Polska. Natomiast, diakrylan poli(glikolu etylenowego) (DAPEG Mw = 256) oraz tlenek fenylbis(2,4,6-trimetylobenzoilo)fosfiny zakupiono w Sigma Aldrich. Wszystkie substancje użyte do badań oraz syntezy były czystości analitycznej.

Synteza materiałów hydrożelowych

Przygotowanie opisywanych materiałów poprzedzono serią syntez mającą na celu dobór ilości fotoinicjatora oraz czynnika sieciującego. Brano pod uwagę stopień usieciowania otrzymanych materiałów, jak również ich elastyczność.

W celu wykonania hydrożelu należy zubożyć 45 ml kwasu akrylowego 50 ml 40% roztworu KOH. Ze względu na charakter egzotermiczny reakcji była ona prowadzona w medium chłodzącym, którym była woda o temp. 10°C. Po osiągnięciu temperatury pokojowej (20°C) pobrano 15 ml mieszaniny i w przeliczeniu na czysty kwas akrylowy zawarty w 15 ml mieszaniny dodano wyliczoną ilość kofeiny w ilości 0%, 1%, 3%, 5%, 7% masowych oraz po 1 ml fotoinicjatora (2 g tlenku fenylbis(2,4,6-trimetylobenzoilo)fosfiny + 10 ml kwasu akrylowego) i 1 ml czynnika sieciującego (DAPEG 256). Synteza hydrożelu prowadzona była pod lampą UV (1 min).

Otrzymane materiały wysuszono w temperaturze pokojowej, a następnie poddawano je działaniu gorącej pary wodnej w celu sterylizacji.

The interesting feature of hydrogel materials is the ability of their modification by introduction of natural and synthetic compounds into the hydrogel matrix. Such addition may affect the physicochemical properties of hydrogels including their sorption capacity or mechanical properties. However, it should be noted that the introduction of an additional substance into the interior of such material may not affect its chemical properties, but only increase a range of its potential applications. The role of the additive can be played by various active substances such as caffeine, plant extracts (e.g. sage or camomile extract) or nanomaterials [7-9].

The main purpose of this study was to obtain a hydrogel, wherein its matrix has been modified with caffeine. The combination of the hydrogel with this substance seems to be very promising for the use in medicine or pharmacy, due to the properties of both the hydrogel and caffeine. The additive to the polymer matrix is a compound that can be obtained from the seeds of coffee or tea leaves. The extracted compound can be used for many medical purposes such as the treatment of headache or overweight [10-12]. Caffeine is a material widely used in cosmetics, for example it is applied for cellulite reducing. This active substance is mainly consumed in the form of coffee, analgesic, or as a component of energy drinks. Therefore, the diverse range of its effects should be taken into account and attention should be paid to the amount in which it appears in consumed products. Caffeine can also have a negative impact on the human body after exceeding the permissible dose [13-15].

Materials and Methods

Materials

Acrylic acid (AA), potassium hydroxide (KOH) and caffeine were bought from Avantor Performance Materials Poland S.A. (formerly POCh S.A.). Poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA) (M = 256) and phenylbis(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphine oxide were received from Sigma Aldrich. All these substances were applied without further purification.

Preparation of hydrogels

Preparation of the described materials was preceded by a series of syntheses conducted in order to select the suitable amounts of photoinitiator and crosslinking agent. The crosslinking degree of obtained materials as well as their flexibility were considered during the selection of the appropriate amounts of the mentioned reagents.

In order to synthesize hydrogels 45 ml of acrylic acid was neutralized using 50 ml of 40% KOH solution. The obtained mixture was kept in a cooling medium (water, 10°C) due to the exothermic character of the reaction.

After reaching a room temperature (20°C) 15 ml of the mixture was added to a calculated amount of a caffeine (in a content of 0%, 1%, 3%, 5%, 7% by weight based on the amount of acrylic acid in a mixture). In the next step 1 ml of a photoinitiator solution (2 g phenylbis(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphine oxide in 10 ml of acrylic acid) and 1 ml of crosslinker (PEGDA 256) were added and the obtained mixture was poured into a Petri dish and treated with UV radiation for 1 min.

Prepared materials were dried at room temperature and subsequently treated with the hot steam sterilization.

Badanie zdolności absorpcyjnych

Zdolność absorpcyjną badano w roztworach 0,9% NaCl, 0,9% MgCl₂, wodzie destylowanej, płynie Ringera i sztucznej ślinie. Suchą próbkę o masie zawierającej się pomiędzy 0,70 a 1 g umieszczano w 50 ml roztworu na czas 1 h, a następnie ważono mokry hydrożel i określano stopień pęcznienia. Stopień pęcznienia został obliczony na podstawie wzoru 1.

$$Q = \frac{w - w_0}{w_0} \quad (1)$$

gdzie: w - masa próbki po spęcznieniu, w_0 - masa próbki przed spęcznieniem

Badanie powtórzono 3-krotnie dla każdej kompozycji, a przedstawione wyniki stanowią wartość średnią z uzyskanych wyników.

Badanie inkubacyjne

Badania inkubacyjne przeprowadzono w wodzie destylowanej (pH = 6,6), płynie Ringera (pH = 6,4) i sztucznej ślinie (pH = 5,75). Próbki o masie 1 g umieszczono w pojemnikach szczelnie zamkniętych na okres 10 tyg. w wodzie destylowanej i płynie Ringera oraz na 4 tyg. w sztucznej ślinie i co 7 dni mierzono pH. Badanie powtórzono 3-krotnie dla każdej kompozycji, a przedstawione wyniki stanowią wartość średnią z uzyskanych wyników.

Badanie spektroskopowe

Badania za pomocą spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni metodą osłabionego całkowitego odbicia FTIR-ATR przeprowadzone były na wysuszonych hydrożelach po zakończeniu badania inkubacyjnego. Każdy hydrożel został przebadany na spektroskopie SPECTRUM 65 Perkin Elmer, który posiada kryształ z selenku cynku.

Wszystkie badania były przeprowadzane w temperaturze pokojowej i pod ciśnieniem atmosferycznym.

Wyniki i dyskusja

Badanie zdolności absorpcyjnej

Badanie pęcznienia materiałów hydrożelowych przez różny okres czasu jest często zależne od ich przeznaczenia. W związku z tym, że materiały będące przedmiotem niniejszej pracy były modyfikowane kofeiną, to ich głównym przeznaczeniem może być przemysł kosmetyczny. Dlatego też badanie pęcznienia prowadzone było w czasie 1 h, gdyż np. płatki kosmetyczne pod oczy niwelujące obrzęki, stosuje się przez około 20-30 min. Warto również wspomnieć, że pęcznienie zależy w dużej mierze od zastosowanego czynnika sieciującego. Im więcej łańcuchów poprzecznych w sieci polimerowej, tym mniejsza zdolność do pęcznienia badanych materiałów. Jednak jak wspomniano na początku, naszym głównym celem było sprawdzenie pęcznienia w krótkim czasie. Na RYS. 1 przedstawiono wyniki opisujące zdolność pęcznienia otrzymanych materiałów hydrożelowych w różnych płynach.

Największa absorpcja roztworu przez hydrożele miała miejsce w wodzie destylowanej, natomiast najmniejsza w MgCl₂. W roztworze NaCl zdolności absorpcyjne hydrożeli są zdecydowanie mniejsze niż w wodzie, ponieważ dochodzi do wymiany pomiędzy jonami H⁺ i Na⁺. Jony te wpływają na zmniejszenie charakteru hydrofilowego grupy karboksylowej, poprzez reakcję zubożnienia, co przyczynia się bezpośrednio do zmniejszenia chłonności w tym roztworze w porównaniu do wody destylowanej. W MgCl₂ występują kationy dwuwartościowe magnezu, które powodują znaczne zwiększenie stopnia usieciowania układu, który wpływa na zmniejszenie chłonności tego roztworu przez hydrożel.

Measurements of swelling ability

The absorption capacity was determined in the following liquids: 0.9% NaCl, 0.9% MgCl₂, distilled water, Ringer's solution and artificial saliva. The dry sample of a weight between 0.7 and 1 g was placed in 50 ml of above listed liquids for 1 h and after this time a wet hydrogel was weighed. The final step was the calculation of swelling ratio using the formula (1):

$$Q = \frac{w - w_0}{w_0} \quad (1)$$

where: w was the weight of a sample after swelling, w_0 was the weight of dry hydrogel.

Measurements were repeated 3 times for each composition, and the presented results are the average of the obtained values.

Incubation studies

Incubation studies were carried out in distilled water (pH = 6.6), Ringer's solution (pH = 6.4) and artificial saliva (pH = 5.75) at 37°C. The samples weighing 1 g were placed in sealed vessels for a period of 10 weeks in the case of distilled water and Ringer's solution and for 4 weeks in the case of artificial saliva. pH of the liquids was measured every 7 days. Measurements were repeated 3 times for each sample. Presented results are the average of received values.

FT-IR spectroscopy

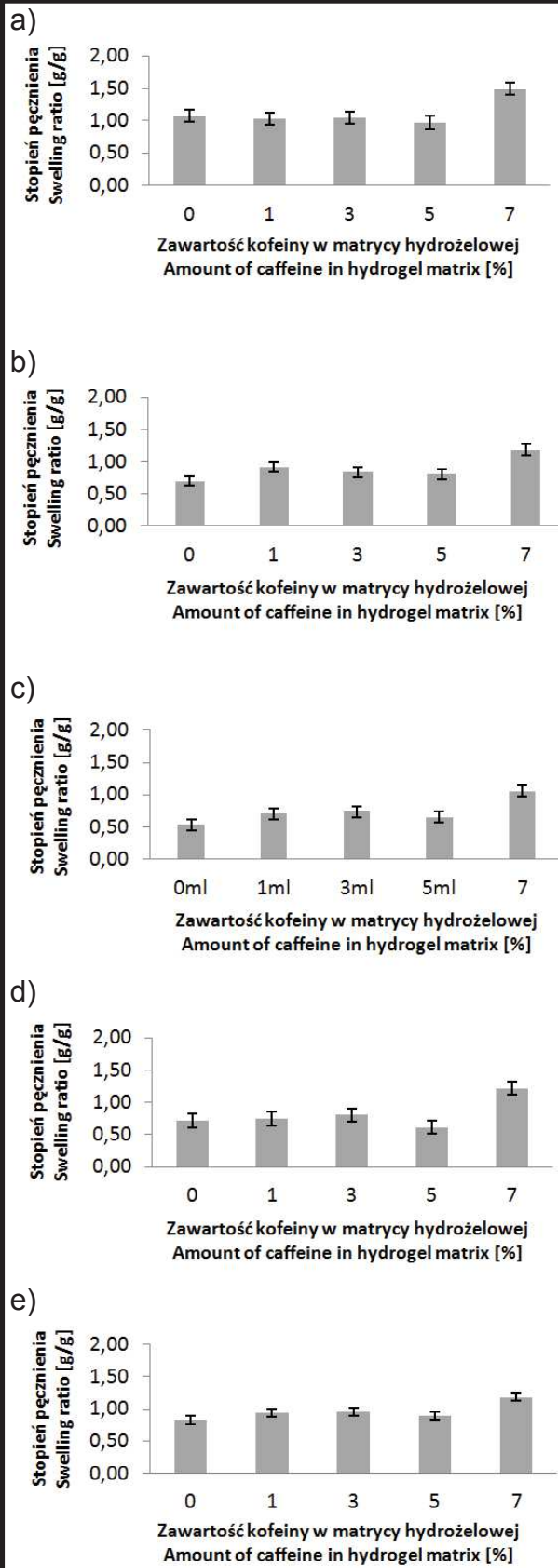
Attenuated total reflection Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy was performed using SPECTRUM 65 Perkin Elmer, zinc selenide was used as a crystal. Studies were conducted using hydrogels before and after incubation. All samples were thoroughly dried before the analysis. All tests were performed at room temperature under atmospheric pressure.

Results and Discussion

Swelling studies

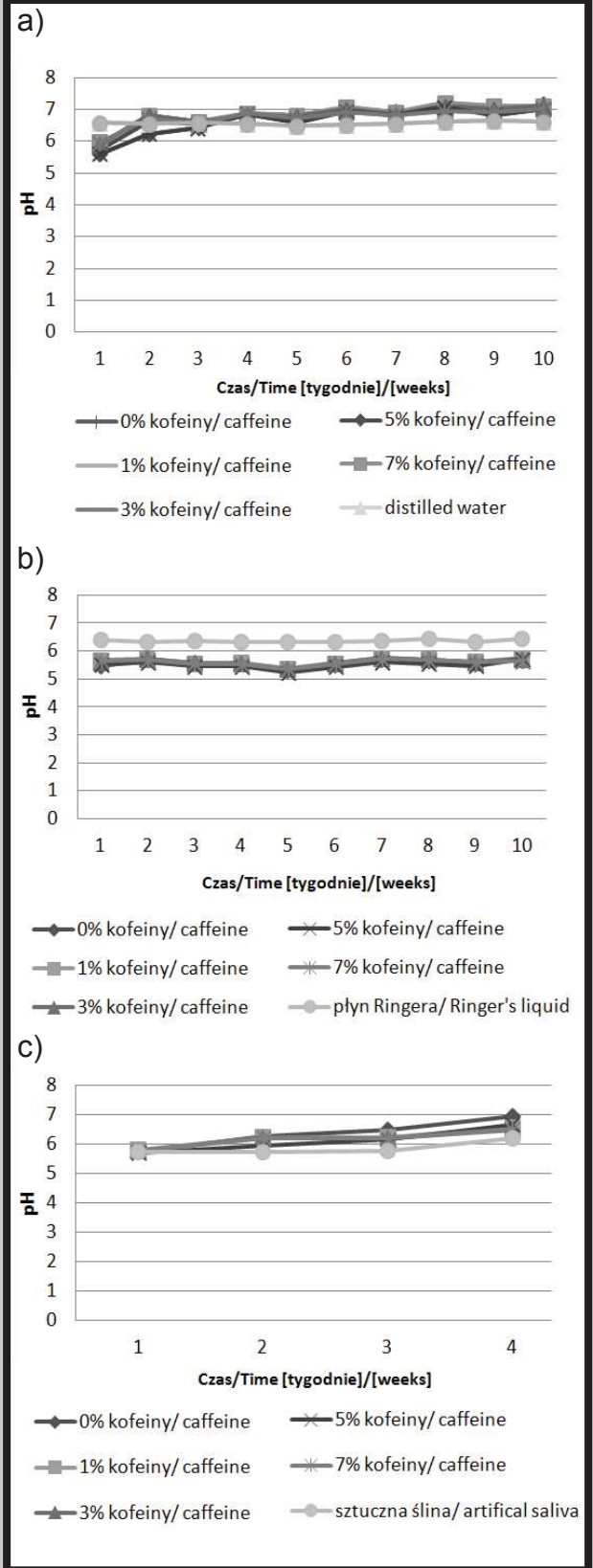
Swelling studies conducted at different time intervals are usually dependent on potential applications of the tested materials. Due to the fact, that our hydrogels have been modified with caffeine, their main application involved cosmetic industry. Therefore, studies on sorption capacity of prepared hydrogels were carried out for 1 h, because, for example cosmetic flakes reducing swelling around eyes are applied for about 20-30 min. However, it should be mentioned that swelling process depends on many factors including type and amount of crosslinking agent used during the polymerization reaction. More crosslinks between polymer chains results in lower swelling ability of the tested hydrogels. Furthermore, as it was previously mentioned, our main purpose was to determine swelling ability of prepared materials in a short time period (such as 1 h). In FIG. 1 results of swelling degree of obtained hydrogels in selected fluids are shown.

The highest absorption of fluid was observed in the case of hydrogels immersed in distilled water, and the lowest in the case of MgCl₂. In the case of NaCl swelling capacity of hydrogels was significantly lower than in distilled water. It is caused by ion exchange between H⁺ and Na⁺ that takes place in the solution after immersion of the hydrogel sample. This ion exchange causes the reduction of the hydrophilic nature of the carboxyl group, which contributes directly to a decrease in the absorption potential of this solution in comparison with distilled water. In the MgCl₂ solution bivalent magnesium ions are present what results in a significant increase in the crosslinking degree. It causes the reduction of swelling capacity of the tested sample.



RYS. 1. Zdolności pęcznienia badanych materiałów w: a) wodzie destylowanej, b) 0,9% r-r NaCl, c) 0,9% r-r MgCl₂, d) płynie Ringera, e) sztucznej ślinie; liczba powtórzeń n = 3.

FIG. 1. Swelling ability of tested hydrogels in: a) distilled water, b) 0.9% NaCl, c) 0.9% MgCl₂, d) Ringer's solution, e) artificial saliva; number of repetitions n = 3.



RYS. 2. Zmiany pH: a) wody destylowanej, b) płynu Ringera, c) sztucznej śliny podczas inkubacji przez 10 lub 4 tygodni badanych materiałów hydrożelowych modyfikowanych kofeiną; liczba powtórzeń n = 3.

FIG. 2. Changes in pH values in the following solutions: a) distilled water, b) Ringer's solution, c) artificial saliva during 10 or 4-week incubation of hydrogel materials modified with caffeine; number of repetitions n = 3.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że podatność na pęcznienie materiałów hydrożelowych zmodyfikowanych niewielką ilością roztworu kofeiny – tj. 1, 3 oraz 5% wag. – jest porównywalna do podatności na pęcznienie hydrożelu bez tego dodatku. Dlatego też, można modyfikować taki materiał wymienionymi objętościami roztworu kofeiny, nie zmieniając pojemności sorpcyjnej hydrożeli. W przypadku wprowadzenia do matrycy hydrożelowej 7% wag. roztworu kofeiny obserwuje się wyraźne zwiększenie się zdolności sorpcyjnych badanych materiałów. Prawdopodobnie jest to związane z faktem, że kofeina jest dodawana do materiału hydrożelowego w formie rozcieńczonego roztworu wodnego. Stąd też po wprowadzeniu takiej ilości rozpuszczalnika do układu możliwe jest powstawanie wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami tego rozpuszczalnika a cząsteczkami rozpuszczalnika obecnego w absorbowanym medium. Na tej podstawie można stwierdzić, że modyfikacja matrycy hydrożelowej za pomocą 7% wag. roztworu kofeiny przyczynia się do zmiany właściwości sorpcyjnych badanych materiałów hydrożelowych.

Badanie inkubacyjne

Badanie inkubacyjne pozwala określić zmiany wartości pH symulowanych płynów ustrojowych, występujących w ludzkim organizmie pod wpływem obecności badanych materiałów. Dzięki temu możemy określić czy inkubacja materiałów może mieć negatywny wpływ na zeszytowany materiał oraz czy spowoduje zmiany pH zewnętrznego środowiska do wartości niepożądanych - takich, które mogą świadczyć o zachodzeniu procesu degradacji. Na RYS. 2 przedstawiono zmiany wartości pH płynów, w których inkubowano badane materiały.

Zmiany pH płynów w czasie inkubacji w nich materiałów hydrożelowych były niewielkie, co sugeruje, że albo degradacja materiałów w takich warunkach nie zachodzi, albo produkty degradacji nie mają wpływu na pH płynów inkubacyjnych. Jest to badanie wstępne i w przyszłości powinny zostać przeprowadzone bardziej dokładne badania, które odpowiedziałyby na pytanie czy proces degradacji materiałów zachodzi w pierwszych tygodniach ich inkubacji w analizowanych płynach.

Badanie spektroskopowe

Badania FTIR miały na celu sprawdzenie wpływu symulowanych płynów ustrojowych na strukturę analizowanych materiałów. Na RYS. 3-7 zaprezentowano widma FT-IR dla badanych materiałów hydrożelowych. W TABELACH 1 i 2 zestawiono charakterystyczne pasma z powyższych widm oraz przypisano im odpowiednie grupy funkcyjne. Zanalizowano pasma w próbkach niemodyfikowanych, czyli takich bez dodatku kofeiny oraz modyfikowanych kofeiną.

Na RYS. 3 zestawiono widma FTIR dla próbki niemodyfikowanej oraz dla próbek modyfikowanych najmniejszą i największą ilością kofeiny. Widać w nich wyraźnie charakterystyczne pasma w położeniach 1660, 1700 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających C=O oraz pasma w położeniach ok. 1250 i ok. 700 cm^{-1} pochodzące od drgań grup C-N (walencyjne) i C-H (deformacyjne). RYS. 4-7 przedstawiają widma FT-IR dla badanych materiałów, ale po okresie inkubacyjnym, który trwał dla wody destylowanej i płynu Ringera 10 tyg., natomiast dla sztucznej śliny 4 tyg.

Based on the conducted studies it can be stated that the swelling capacity of hydrogel materials modified with a small amount of caffeine solution – i.e. 1, 3 and 5 wt% - is comparable to the swelling capacity of unmodified hydrogel. Therefore, it is possible to modify hydrogel polymers with the mentioned volumes of caffeine solution without changing their sorption capacity. In the case of introduction of 7 wt% of caffeine solution into the hydrogel matrix, the sorption capacity of the tested materials increased. This is probably due to the fact that caffeine is added in the form of a diluted aqueous solution. Hence, after introduction of such amount of additional solvent into the system, formation of hydrogen bonds between the molecules of these solvent and the solvent molecules present in the absorbed medium can take place. Thus it can be stated that the modification of the hydrogel matrix with 7 wt% caffeine solution contributes to the change of the sorption properties of the tested hydrogel materials.

Incubation studies

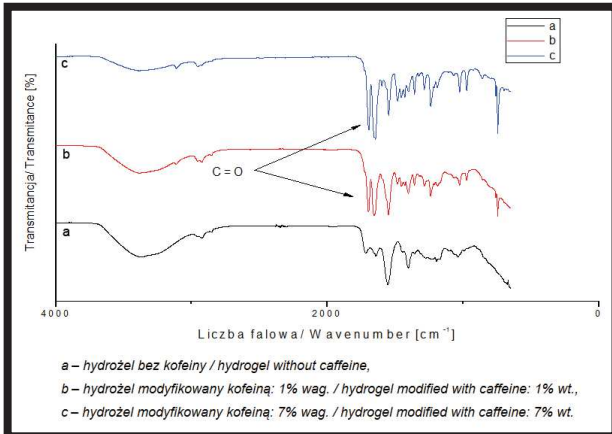
The study let us to determine possible changes in pH value of the liquids similar to solutions present in the human body during 10 weeks of incubation. Due to such research it is possible to define whether such long period of incubation can have a negative impact on the synthesized materials (i.e. whether prepared hydrogels cause rapid changes in pH that may indicate that degradation process occurs). In FIG. 2 changes in pH values during incubation of the hydrogels are shown.

The results show that changes in pH of tested samples incubated in different solutions are negligible what may suggest that degradation process does not take place, or it occurs but in a way that does not have any impact on the surrounding liquids. It should be mentioned that this is a preliminary test. Further studies are needed to determine in a more precise way whether process of degradation takes place during the first weeks of incubation in used fluids.

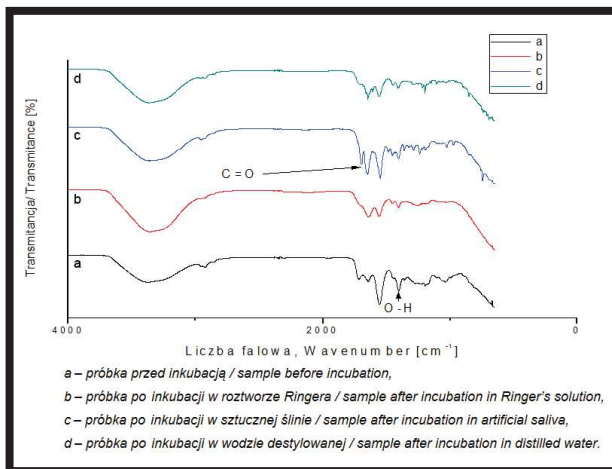
FT-IR spectroscopy

The FTIR studies aimed at determining the impact of simulated body fluids on the structure of the tested materials. In FIGs. 3-7 FT-IR spectra of analysed hydrogel materials are presented. TABLES 1 and 2 present the characteristic bands observed on the spectra with appropriate functional groups. Bands derived from unmodified samples, i.e. those without caffeine, and those modified with this compound were analysed.

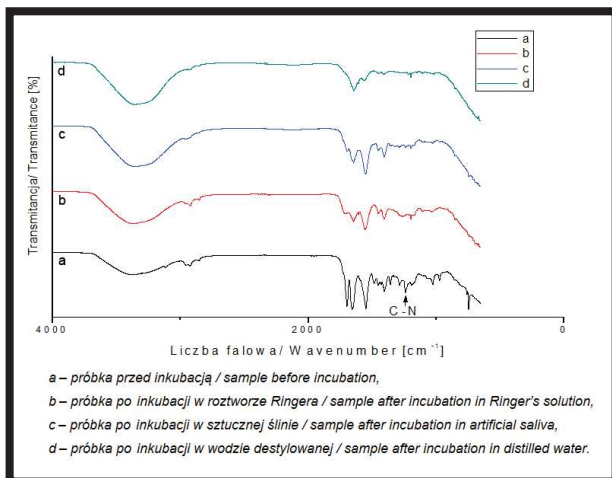
In FIG. 3 FTIR spectra of unmodified sample and those samples modified with the smallest and the highest amount of caffeine are shown. Clearly visible bands at 1660 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} derived from C = O stretching vibrations as well as bands at 1250 cm^{-1} and approx. 700 cm^{-1} derived from C-N (valence) and C-H (deformation) can be observed. FIGs. 4-7 show FT-IR spectra of the tested materials, but after the incubation period which lasted in the case of distilled water and Ringer's solution 10 weeks, while in the case of artificial saliva - 4 weeks.



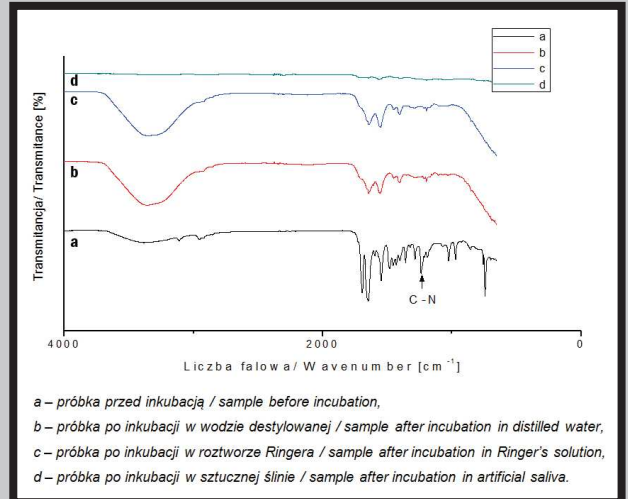
RYS. 3. Widma FT-IR próbek z różną zawartością kofeiny przed inkubacją.
FIG. 3. FT-IR spectra of hydrogel samples with different amount of caffeine before incubation.



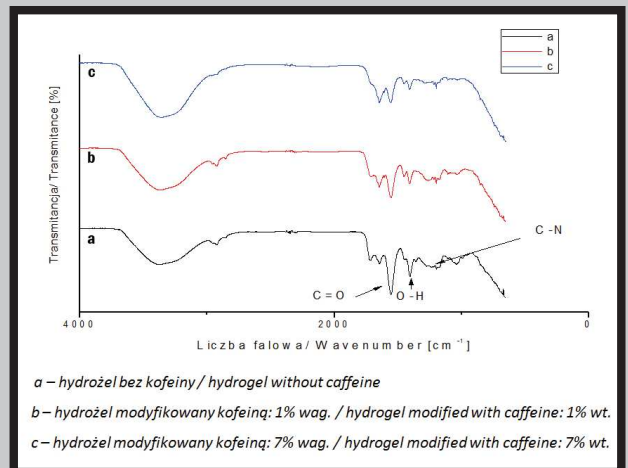
RYS. 4. Widma FT-IR dla próbki bez kofeiny przed i po inkubacji.
FIG. 4. FT-IR spectra of hydrogel sample without caffeine before and after incubation.



RYS. 5. Widma FT-IR dla próbki z 1% zawartością kofeiny przed i po badaniu inkubacyjnym.
FIG. 5. FT-IR spectra of hydrogel sample modified with caffeine (1 wt%) before and after incubation.



RYS. 6. Widma FT-IR próbki z 7% zawartością kofeiny przed i po badaniu inkubacyjnym.
FIG. 6. FT-IR spectra of hydrogel sample modified with caffeine (7 wt%) before and after incubation.



RYS. 7. Widma FT-IR próbek z różną zawartością kofeiny (1 i 7%) po inkubacji w płynie Ringera.
FIG. 7. FT-IR spectra of hydrogel samples modified with different amount of caffeine (1 and 7 wt%) after incubation in Ringer's solution.

TABELA 1. Charakterystyczne pasma w widmie FT-IR dla próbki materiału bez dodatku kofeiny przed badaniem inkubacyjnym.
TABLE 1. Characteristic bands in FT-IR spectrum of sample without caffeine before incubation studies.

Grupa funkcyjna Functional group	Typ drgań Type of vibration	Liczba falowa Wavenumber [cm ⁻¹]
O-H	rozciągające / stretching	3350
C-H	rozciągające / stretching	2900
C=O	rozciągające / stretching	1540
O-H	deformacyjne / deformation	1400

TABELA 2. Charakterystyczne pasma w widmach FT-IR dla próbek z dodatkiem 1% i 7% mas. kofeiny przed badaniem inkubacyjnym.

TABLE 2. Characteristic bands in FT-IR spectra in samples modified with 1% and 7% (wt.) caffeine before incubation studies.

Grupa funkcyjna Functional group	Typ drgań Type of vibration	Liczba falowa Wavenumber [cm ⁻¹]
O-H	rozciągające / stretching	3350
C-H	rozciągające / stretching	3100
C-H	rozciągające / stretching	2900
C=O	rozciągające / stretching	1650, 1700
C=O	rozciągające / stretching	1540
C=C	rozciągające / stretching	1500
C-N	walencyjne / valence	1300
C-H	deformacyjne / deformation	675

Na RYS. 4 przedstawiono widma FT-IR dla próbki niemodyfikowanej kofeiną przed oraz po inkubacji w wyżej wymienionych roztworach. Na widmach obserwujemy mniejszą intensywność pików dla liczb falowych ok. 1250 cm⁻¹ od grup O-H pochodzących od kwasu akrylowego. Daje to informację, że może dochodzić do wymywania kwasu akrylowego bądź może to informować o degradacji matrycy poprzez rozpad wiązań polimerowych, w związku z długim procesem inkubacji. Na widmie obserwuje się również pojawienie dodatkowego pików w położeniu ok. 1600 cm⁻¹, który jest charakterystyczny dla grup C=O. Pasma to pojawia się tylko i wyłącznie dla próbki inkubowanej w sztucznej ślinie. Przyczyną tego jest występowanie w składzie tego roztworu mocznika, który w swojej budowie strukturalnej zawiera właśnie takie grupy funkcyjne.

Na kolejnych wykresach (RYS. 5 i 6) obserwujemy widma FT-IR dla próbki zmodyfikowanej 1% oraz 7% wag. dodatkiem kofeiny, przed oraz po badaniu inkubacyjnym. Obserwujemy zmniejszenie intensywności pasm C-N (1250 cm⁻¹), które świadczą o wypłukiwaniu kofeiny.

Na RYS. 7 zaprezentowano wpływ inkubacji w płynie Ringera na materiały niemodyfikowane i modyfikowane 1% i 7% wag. kofeiny. Im większa zawartość kofeiny w materiale, tym większy zanik pasm takich jak C=O (1550 cm⁻¹), O-H (1400 cm⁻¹) oraz C-N (1300 cm⁻¹). Pasma C=O pochodzą od kofeiny, czynnika sieciującego oraz kwasu akrylowego. Grupy O-H pochodzą wyłącznie od kwasu akrylowego, natomiast pasma od grup C-N pochodzą wyłącznie od kofeiny. Tak więc można stwierdzić, że większa ilość dodatku wpływa na większe rozszerzenie łańcuchów polimerowych w strukturze, a przez to ułatwia to wymywanie kofeiny i być może rozpad łańcuchów polimerowych, czego efektem jest obniżenie intensywności pasm od kwasu akrylowego oraz czynnika sieciującego.

Potwierdzeniem wniosków wysnutych na podstawie tego badania mogą być przeprowadzone w przyszłości badania nad uwalnianiem substancji czynnej z otrzymanych materiałów przeprowadzone w membranach imitujących ludzką skórę.

In FIG. 4 FT-IR spectra of an unmodified sample before and after incubation in the above-mentioned liquids are shown. In the spectra, a low intensity of peaks at approx. 1250 cm⁻¹ originating from O-H groups derived from acrylic acid can be noticed. Thus we can hypothesise that elution of acrylic acid can occur or degradation of the matrix by the breakdown of polymer bonds due to the long incubation process can take place. In the spectrum an additional peak at approximately 1600 cm⁻¹, which is characteristic for C=O groups also can be observed. This band appears only in the case of the sample incubated in artificial saliva. The reason for this is presence of urea in this liquid, which contains such functional groups in its structure.

In FIGs. 5 and 6 the FT-IR spectra of samples modified with caffeine in an amount of 1% and 7% by weight before and after incubation studies are shown. Decrease in the intensity of C-N bonds (1250 cm⁻¹), which indicates the process of caffeine elution from the tested hydrogel is visible.

In FIG. 7 the impact of incubation in Ringer's solution on unmodified and modified materials with 1% and 7% by weight caffeine is presented. The higher caffeine content in the material resulted in the greater disappearance of bands from groups such as C=O (1550 cm⁻¹), O-H (1400 cm⁻¹) and C-N (1300 cm⁻¹). C=O bands are derived from caffeine, crosslinking agent and acrylic acid. Bands characteristic for O-H groups are derived exclusively from acrylic acid, while the bands from C-N groups are derived exclusively from caffeine. Thus, it can be stated that a higher amount of the additive affects polymer chains in the structure to a higher extent, and thus facilitates elution of caffeine and perhaps the breakdown of bonds in polymer chains, which results in the lower intensity of the bands from acrylic acid and the cross-linking agent.

To confirm this hypothesis additional experiments on the release of the active substance from the obtained materials carried out using membranes imitating human skin will be conducted in the future.

Na podstawie przeprowadzonych badań, możemy stwierdzić, że otrzymane materiały wykazują dobrą zdolność do pęcznienia w symulowanych płynach ustrojowych. Pęcznienie tych materiałów zależy również od roztworu, w którym dokonywano badania, a nie tylko od matrycy. Obecność różnych jonów w medium inkubacyjnym ma duży wpływ na pojemności sorpcyjne badanych materiałów, tak więc materiały te w środowisku wody destylowanej pęcznią najbardziej. W przypadku roztworów takich jak sztuczna ślina, płyn Ringera czy roztwory $MgCl_2$ oraz $NaCl$ obserwuje się mniejsze pęcznienie, a jest to spowodowane występowaniem dużej ilości jonów w tych roztworach. Ponadto, warto również zaznaczyć, że znaczenie ma również wartościowość jonów, co możemy obserwować porównując pęcznienie tych materiałów w obecności jonów Na^+ oraz Ca^{2+} . Obecność w płynie jonów dwuwartościowych powoduje wzrost usieciowania struktury, a tym samym wpływa na zmniejszenie pojemności sorpcyjnej takiego materiału. Różnica w pęcznieniu była również widoczna dla materiału zmodyfikowanego największą ilością dodatku, tj. 7% wag. Tak więc badanie to dostarcza informacji o możliwości regulacji pojemnością sorpcyjną tych materiałów, poprzez zastosowanie odpowiedniej ilości czynnika modyfikującego, bądź w zależności od środowiska, w którym będzie stosowany.

Ponadto, badanie materiały podczas badania inkubacyjnego, trwającego 10 tygodni nie powodowały zmian pH w roztworach. Podczas pomiarów nie obserwowano znacznych spadków oraz skoków w wartościach pH, co może świadczyć o ich stabilności. Na podstawie badań FTIR stwierdzono, że inkubacja w badanych płynach wpływa na uwalnianie kofeiny, ponieważ obserwuje się na widmach zmniejszenie lub zanik charakterystycznych pasm, które są obecne w materiale przed badaniem.

Podziękowania

Badanie finansowane były w ramach projektu C-4/439/2017/DS.

Conclusions

Based on the conducted studies we can conclude that obtained materials show good swelling capacity in simulated body fluids. The swelling of these materials depends on the composition of the hydrogel matrix but also on the fluid in which the study was conducted. The presence of various ions in the incubation medium has a major impact on the sorption capacity of the tested materials; therefore these materials swell the most in distilled water. In the case of solutions such as artificial saliva, Ringer's solution or solutions of $MgCl_2$ and $NaCl$, a lower swelling is observed, which is caused by the presence of a large amount of ions in these liquids. In addition, it is also worth noting that the type of ions is also important, which can be observed by comparison of the swelling of these materials in the presence of Na^+ and Ca^{2+} ions. The presence of divalent ions in the tested medium causes an increase in cross-linking degree of hydrogel structure, and thus reduces the sorption capacity of such material. The difference in swelling properties was also visible in the case of the material modified with the highest amount of the additive, i.e. 7 wt%. Thus, the study provides information on the possibility of adjusting the sorption capacity of these materials by using an appropriate amount of the modifying agent, or depending on the environment in which it will be used.

In addition, analysed materials during the incubation study that lasted 10 weeks did not cause any significant changes in pH of the tested liquids. During the measurements, any significant decreases in pH values were observed, which may indicate stability of the materials. Based on FTIR analysis it can be stated that incubation in the tested liquids affects the release of caffeine, because in the spectra less intensity or even disappearance of bands characteristic for particular functional groups present in the material before the study can be observed.

Acknowledgements

The research was supported by grant C-4/439/2017/DS.

Piśmiennictwo

- [1] Gupta P., Vermani K., Garg S.: Hydrogels: from controlled release to pHresponsive drug delivery. *Drug Discov Today* 10 (2002) 569-578.
- [2] Pluta J., Koralewicz B.: Hydrożele: właściwości i zastosowanie w technologii postaci leku. II. Możliwości zastosowania hydrożeli jako nośników substancji leczniczej. *Polimery w Medycynie* 3 (2004) 3-19.
- [3] Enrica C., Vitaliy V.K.: Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal* 65 (2015) 252-267.
- [4] Gibas I., Janik H.: Review: Synthetic Polymer Hydrogels for Biomedical applications. *Chemistry & Chemical Technology* 4 (2010) 297-304.
- [5] Rabek J.F.: *Polimery*, Polskie Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 2013.
- [6] Andrzejewska E., Marcinkowska A., Podgórska M., Stępiak I., Sydej M.: Photopolymerization. *New investigations*. *New Materials*. *Polimery* 5 (2009) 325-404.
- [7] Tylińczak B., Drabczyk A., Kudłacik S.: Comparison of Hydrogels Based on Commercial Chitosan and Beetosan® Containing Nanosilver. *Molecules* 22 (2017) 61.
- [8] Tylińczak B., Drabczyk A., Kudłacik S., Sobczak-Kupiec A.: Beetosan®-Based Hydrogels Modified with Natural Substances. *Journal of Renewable Materials* 5 (2017) 174-179.

References

- [9] Tylińczak B., Drabczyk A., Kudłacik S., Sobczak-Kupiec A.: Preparation, characterization, and in vitro cytotoxicity of chitosan hydrogels containing silver nanoparticles. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 28 (2017) 1665-1676.
- [10] Pires-de-Campos M., Leonardi G., Chorilli M.: The effect of topical caffeine on the morphology of swine hypodermis as measured by ultrasound. *Journal of Cosmetic Dermatology* 7 (2008) 232-237.
- [11] Shakeel F., Faisal M.S.: Caffeine: A potential complexing agent for solubility and dissolution enhancement of celecoxib. *Pharmaceutical Biology* 48 (2010) 113-115.
- [12] Jagoda A.: Caffeine as an indicator of anthropogenic contamination of the water environment, *Rozprawa doktorska*, Politechnika Krakowska, Kraków 2014.
- [13] Fredholm B.: *Methylxanthines*, Springer, Berlin 2011.
- [14] Andreeva E., Dmitrienko S.G., Zolotov A.: Methylxanthines: properties and determination in various objects. *Russian Chemical Reviews* 81 (2012) 397-414.
- [15] Bellisle F., Blundel J.E., Dye L., Fantino M., Fern E., Fletchee R.J., Lambel J., Roberfroid M., Specter S., Westenhofer J.: Functional food science and behaviour and psychological functions. *British Journal of Nutrition* 1 (1998) 173-193.
- [16] Gugino B.K., Idowu O.J., Schindelbeck H.M., van Es H.M., Wolfe D.W., Thies J.E., Abawi G.S.: *Cornell soil health assessment training manual*, NYSAES, Geneva, New York 2007.