

Właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne biokompozytów polimerowych

Maria Wiśniewska-Wrona^{1), *)}, Mirosława El Fray²⁾

DOI: [dx.doi.org/10.14314/polimery.2019.1.3](https://doi.org/10.14314/polimery.2019.1.3)

Streszczenie: Otrzymano błony biokompozytowe wytworzone na bazie chitozanu (Chit) i alginianu sodu (Alg) z udziałem substancji leczniczych o działaniu przeciwzapalnym (siarczan cynku) i przeciwbakteryjnym (sulfanilamid). Metodami spektrofotometrii w podczerwieni (FT-IR), magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oceniono wpływ zawartości chitozanu i alginianu na budowę chemiczną i temperaturę przemian fazowych biokompozytów. Analiza termiczna wykazała, że dodatek substancji leczniczych do materiałów biokompozytowych wpływa zarówno na obniżenie ich temperatury topnienia, jak i na zmniejszenie entalpii związanej z tą przemianą.

Słowa kluczowe: rany odleżynowe, chitozan, alginian, opatrunek w postaci jednowarstwowej błony, FT-IR, DSC, NMR.

Physicochemical and functional properties of polymer biocomposites

Abstract: Biocomposite films based on chitosan (Chit) and sodium alginate (Alg) and containing anti-inflammatory (zinc sulfate) and antimicrobial (sulfanilamide) pharmaceutical ingredients were prepared. The effects of variable chitosan and alginate contents on the chemical structure and phase transition temperatures of biocomposites were studied using infrared spectroscopy (FT-IR), nuclear magnetic resonance (NMR) and differential scanning calorimetry (DSC). Thermal analysis showed that the addition of pharmaceuticals decreased the melting temperature and melting enthalpy of polymer biocomposites.

Keywords: bedsores, chitosan, alginate, single layer film wound dressing, FT-IR, DSC, NMR.

Rany odleżynowe stanowią odwieczny i bardzo aktualny problem kliniczny. Występują u pacjentów wielu oddziałów szpitalnych, domów opieki, zwykle przewlekle chorych i unieruchomionych. Powstawanie trudno gojących się ran jest konsekwencją długotrwałego, niezmiennego ucisku na tkanę, prowadzącego do zaburzenia ukrwienia, a tym samym niedotlenienia i niedożywienia tkanek. W wyniku takiego procesu powstaje martwica, czyli miejscowe obumarcie tkanek lub narządów. W miarę oddzielania się tkanek martwiczych tworzą się trudno gojące się owrzodzenia (rany) ulegające zakażeniu; stan ten może dotyczyć wszystkich warstw ciała, od naskórka po kości. Powstałe odleżyny przysparzają choremu dodatkowych cierpień oraz prowadzą do poważnych powikłań, takich jak: zakażenie, posocznica,

zapalenie szpiku i kości, przetoki i zmiany nowotworowe. Gojenie się odleżyn to proces złożony, obejmujący regenerację tkanki łącznej, naczyniowej i naskórka [1–3]. Udowodniono, że rany goją się dwa razy szybciej w środowisku wilgotnym, a istotny wpływ na szybkość gojenia się rany ma temperatura i stężenie tlenu. Taki właściwy mikroklimat można stworzyć za pomocą wielofunkcyjnych opatrunków nowej generacji.

Zwiększa się zapotrzebowanie na materiały opatrunkowe, zapewniające ochronę i warunki do skutecznego leczenia odleżyn w różnym stopniu ich zaawansowania, a jednocześnie pełniące rolę nośnika substancji leczniczej. Opatrunki takiego typu powinny być wykonane ze specjalnych biodegradowalnych materiałów polimerowych, będących dobrymi promotorami wchłaniania substancji czynnej, charakteryzujących się odpowiednimi właściwościami sorpcyjnymi, mechanicznymi i stymulującymi procesy gojenia się ran.

Poliaminosacharydy, w szczególności chitozan, dzięki specyficznym właściwościom biologicznym, polegającym na zdolności do przyspieszania procesu ziarninowania i epitalizacji rany, stanowi doskonały materiał do konstrukcji preparatów opatrunkowych przeznaczonych do leczenia odleżyn lub innych trudno gojących się ran

¹⁾ Instytut Biopolimerów i Włókien Chemicznych, ul. M. Skłodowskiej-Curie 19/27, 90-570 Łódź.

²⁾ Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Polimerów, Zakład Materiałów Funkcjonalnych i Biomateriałów, Al. Piastów 45, 70-311 Szczecin.

*) Autor do korespondencji; e-mail: mwrona@ibwch.lodz.pl

[4–9]. Alginiany (sodowy i sodowo-wapniowy), ze względu na wysoką zdolność do pęcznienia, wchłaniania płynów i wydzielin oraz właściwości hemostatyczne, stają się również szczególnie przydatne do wytwarzania opatrunków stosowanych zarówno w tzw. wilgotnej terapii ran, jak i w leczeniu ran w pierwszej fazie gojenia [10–12].

Na podstawie przeglądu literatury stwierdzono, że prowadzone są także badania zmierzające do wytworzenia kompleksów polielektrolitowych na bazie różnych polimerów naturalnych, w wyniku wzajemnego oddziaływania elektrostatycznego między dwoma przeciwnie naładowanymi polimerami [13–15]. Opracowane kompleksy polielektrolitowe znalazły zastosowanie w różnych aplikacjach, m.in. jako nośniki w systemach kontrolowanego uwalniania leków, materiały do kapsułkowania różnego typu substancji leczniczych o przedłużonym działaniu terapeutycznym oraz podłoża polimerowe do hodowli komórkowej w inżynierii tkankowej. Tworzenie stabilnych systemów kontrolowanego uwalniania leków jest możliwe ze względu na specyficzne właściwości biologiczne tworzących je polimerów, m.in. biodostępność, biodegradowalność, nietoksyczność.

W zależności od potrzeb do systemów wprowadzano i dostarczano w sposób kontrolowany różne substancje aktywne, np. leki małocząsteczkowe i wielocząsteczkowe o działaniu przeciwzapalnym, przeciwdrobnoustrojowym, przeciwnowotworowym oraz czynniki wzrostu [13–19]. Nie znaleziono w literaturze doniesień o badaniach prowadzonych w układach (systemach transdermalnych) podobnych do przedstawianych w pracy – z udziałem substancji farmakologicznych o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwzapalnym.

W niniejszym artykule przedstawiono badania dotyczące wpływu udziału chitozanu (Chit) i alginianu (Alg) w biokompozytach polisacharydowych na ich budowę chemiczną i właściwości termiczne oraz termomechaniczne. Metodami analizy termicznej (DSC), spektrofotometrii w podczerwieni (FT-IR) oraz magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) zbadano kompozytowe materiały opatrunkowe wytworzone na bazie chitozanu i alginianu sodu z udziałem substancji leczniczych o działaniu przeciwzapalnym (siarczan cynku) i przeciwbakteryjnym (sulfanilamid), przeznaczone do leczenia ran odleżynowych. Ilość substancji aktywnej ustalono na podstawie dawki zalecanej w Farmakopei Polskiej (FP VIII, 2008) dla preparatów stosowanych do użytku zewnętrznego [20]. Sulfanilamid to związek organiczny (amid kwasu *p*-aminobenzenosulfonowego) o działaniu bakteriostatycznym w stosunku do różnych szczepów bakterii, gronkowców i paciorkowców, używany miejscowo w ropnych chorobach skóry i ranach ropiejących [21]. Siarczan cynku ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) działa immunostymulująco, pobudza odnowę tkanek, syntezę białka oraz przyspiesza gojenie ran i odleżyn, dodatkowo związki cynku działają antyseptycznie, osuszająco, przeciwobrzękowo, przeciw wysiękowo oraz przeciwzapalnie [21, 22].

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiały

W badaniach wykorzystano:

- chitozan firmy Vanson Halo Source USA, o średnim ciężarze cząsteczkowym $\bar{M}_w = 320,0 \cdot 10^3$, stopniu deacetylacji $SD = 77,5 \%$, zawartości popiołu = 40 ppm;
- modyfikowaną sól mleczanu chitozanu o $pH = 6,20-6,65$ i zawartości polimeru = 1,96 % mas., $\bar{M}_w = 316,0 \cdot 10^3$, $SD = 77,5 \%$, otrzymaną we własnym zakresie;
- alginian sodu (Protanal 10/60) firmy FMC BioPolymer;
- plastyfikator – glicerynę firmy Fluka;
- kwas mlekowy cz.d.a. firmy Fluka;
- chlorek wapnia bezwodny cz.d.a. firmy POCh.

Substancje lecznicze:

- sulfanilamid (związek organiczny, amid kwasu *p*-aminobenzenosulfonowego, bakteriostatyk) firmy Sigma-Aldrich;
- siarczan cynku $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$, uwodniony, firmy Aldrich.

Otrzymywanie błon z biokompozytów Chit/Alg z dodatkiem substancji aktywnej

Do wytworzenia biokompozytów chitozanowo-alginianowych (Chit/Alg), stanowiących podstawowy składnik materiału opatrunkowego w postaci błon wykorzystano mleczan chitozanu o zwiększonym $pH = 6,2-6,6$ i zawartości polimeru 1,96 % mas. oraz roztwór alginianu sodu o stężeniu 1,7 % mas. Z roztworów mleczanu chitozanu i alginianu sodowego przygotowano trzy mieszanki o stosunku masowym chitozanu do alginianu 85 : 15 (Chit/Alg/1), 75 : 25 (Chit/Alg/2) i 50 : 50 (Chit/Alg/3). Do przygotowanych mieszanin wprowadzano odrębnie substancje aktywne: sulfanilamid w ilości 6 % mas. lub siarczan cynku w ilości 2 % mas. (w stosunku do suchej masy polimerów w kompozycie, zgodnie z dawką zalecaną w Farmakopei Polskiej wyd. VIII 2008) [20]. Skład wytworzonych materiałów kompozytowych przedstawiono w tabelach 1 i 2.

W celu wytworzenia błony biokompozytowej odpowiednią ilość mieszaniny o zawartości polimeru 1,0–1,7 % mas. wylewano na płytki teflonowe i suszono w temp. $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ i przy wilgotności $65 \pm 4 \%$ przez 24–48 h.

Metody badań

Spektrofotometria w podczerwieni (FT-IR) biokompozytów polimerowych

Widma FT-IR biokompozytów polimerowych w postaci błon rejestrowano za pomocą aparatu Genesis Series FT-IR™ (Unicam, Wlk. Bryt.) wyposażonego w program analityczny ATI Mattson i Peak Solve. Widma wykonano techniką prześwietleniową w zakresie liczb falowych $500-4000 \text{ cm}^{-1}$, z rozdzielczością 4 cm^{-1} i liczbą

Tabela 1. Skład ilościowy biokompozytów zawierających siarczan cynku (Chit/Alg/Zn)**Tabelle 1. Quantitative composition of biocomposites containing zinc sulfate (Chit/Alg/Zn)**

Symbol	Zawartość składników, % mas.				Zawartość polimerów (Chit i Alg) w biokompozycie % mas.	Stosunek masowy Chit/Alg	pH
	Mleczan chitozanu	Alginian sodu	Siarczan cynku	Gliceryna			
Chit/Alg/1/Zn	59,86	10,56	1,41	28,17	1,49	85 : 15	6,35
Chit/Alg/2/Zn	52,82	17,60	1,41	28,17	1,49	75 : 25	6,43
Chit/Alg/3/Zn	35,21	35,21	1,41	28,17	1,60	50 : 50	6,36

Tabela 2. Skład ilościowy biokompozytów zawierającego sulfanilamid (Chit/Alg/Sul)**Tabelle 2. Quantitative composition of biocomposites containing sulfanilamide (Chit/Alg/Sul)**

Symbol	Zawartość składników, % mas.				Zawartość polimerów (Chit i Alg) w biokompozycie % mas.	Stosunek masowy Chit/Alg	pH
	Mleczan chitozanu	Alginian sodu	Siarczan cynku	Gliceryna			
Chit/Alg/1/Sul	58,22	10,27	4,11	27,40	1,69	85 : 15	6,23
Chit/Alg/2/Sul	51,37	17,12	4,11	27,40	1,49	75 : 25	6,47
Chit/Alg/3/Sul	34,25	34,25	4,11	27,39	1,49	50 : 50	6,46

skanów 32. Preparaty w postaci tabletek KBr przygotowano z zastosowaniem stałych naważek (1 mg próbki na 200 mg KBr), a preparaty ciekłe analizowano przy użyciu kuwety AgCl [23].

Struktura powierzchni wytworzonych biokompozytów

Strukturę powierzchni błon biokompozytowych oceniano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) Quanta 200 (FEI Co., USA). Próbki mocowano w szczękowym stoliku, a następnie przy użyciu napyłarki próżniowej Q 150R S napyłano je cienką warstwą złota (rzędu 20 nm). Po napyleniu próbki umieszczano w komorze mikroskopu. Badania prowadzono w warunkach wysokiej próżni z napięciem przyspieszającym wiązkę elektronów 5 KV, z wykorzystaniem programu analySIS Docu firmy Soft Imaging System, przystosowanego do pracy w środowisku Quanta.

Badania strukturalne wybranych preparatów biokompozytowych metodą NMR ciała stałego

Badania strukturalne metodą magnetycznego rezonansu jądrowego ciała stałego wybranych błon biokompozytowych z dodatkiem substancji aktywnej (sulfanilamidu lub siarczanu cynku) i bez dodatku przeprowadzono w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Samodzielnej Pracowni Badań Strukturalnych w Łodzi z wykorzystaniem spektrometru BRUKER AVANCE III, przy częstotści larmorowskiej 75,47 MHz dla ^{13}C i 121,49 MHz dla ^{31}P . Warunek Hartmann-Hahna w sekwencji ^{13}C CP/MAS ustawiono w odniesieniu do próbki glicyny, natomiast adamantan wykorzystano jako drugorzędowy wzorzec przesunięcia chemicznego, $\delta = 38,48$ ppm i 29,46 ppm, względem tetrametylosilanu (TMS) [24]. W pomiarach użyto szerokopasmową sondę

MAS. Próbki chitozanu umieszczano w 4 mm rotorze cyrkonowym (ZrO_2) i wirowano pod kątem magicznym z prędkością 8 kHz. Typowe widmo CP/MAS rejestrowano z pulsem protonowym 90° równym 3,5 μs , czasem kontaktu 1 ms, odstępem między pulsami 10 s w zakresie spektralnym równym 25 kHz. FIDs zbierano w domenie czasu równej 2 K pkt. W czasie polaryzacji skrośnej zastosowano sekwencję „rampy” [25] o zmiennej geometrii pulsu podczas kontaktu między spinami. Protony odsprzęgano z zastosowaniem sekwencji *Two Pulse Phase Modulation* (TPPM) [26] z parametrem $\tau_p = 6,8$ μs i kątem fazowym równym 20° podczas akwizycji.

Badania termiczne wybranych biokompozytów polimerowych metodą DSC

Badania termiczne otrzymanych materiałów wykonano z zastosowaniem kalorymetru różnicowego Q100 (TA Instruments) w nieizotermicznym cyklu grzanie-chłodzenie-grzanie w zakresie temperatury od -100 do 150 $^\circ\text{C}$ z szybkością grzania 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$. Temperaturę topnienia (odpowiadającą utracie wody) wyznaczono z termogramów pierwszego grzania. Analizę danych przeprowadzono za pomocą oprogramowania Universal Analysis (TA Instruments).

Właściwości użytkowe biokompozytów polimerowych

Ocenę parametrów użytkowych wytworzonych preparatów biokompozytowych, obejmującą właściwości chłonne oraz transmisję pary wilgoci (ang. *moisture vapor transmission rate*, MVTR) w zetknięciu z parą wodną, przeprowadzono w Akredytowanym Laboratorium Metrologicznym (certyfikat akredytacji AB 338) oraz w Zespole Biomateriałów IBWCh. Transmisję pary wilgoci oznaczano zgodnie z normą PN-EN 13726-2:2005 na

podstawie różnicy mas. Parametr ten określa przepuszczalność materiałów względem wody przedostającej od strony skóry do atmosfery zewnętrznej w określonych warunkach wilgotności i temperatury.

Z wytworzonej błony biokompozytowej wycięto próbkę o wymiarach 50 × 50 mm, którą umieszczano następnie w pierścieniu uszczelniającym i mocowano w cylindrze zawierającym 20 cm³ dejonizowanej wody. Tak przygotowany pojemnik ważono z dokładnością 0,0001 g i umieszczano w suszarce w temp. 37 ± 1 °C na 24 h. Po wyjęciu z suszarki pojemnik niezwłocznie ważono. Transmisję par wilgoci *MVTR* (masa odparowanej wody, która przeszła przez próbkę o powierzchni 1 m² w ciągu 24 h) obliczano ze wzoru:

$$MVTR = (W_1 - W_2) \cdot 1000 \cdot 24/T \left[\frac{\text{g}}{\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h}} \right] \quad (1)$$

gdzie: W_1 – masa pojemnika, próbki i płynu przed badaniem (g), W_2 – masa pojemnika, próbki i płynu po przeprowadzeniu badania (g), T – czas przeprowadzania badania (h).

Wskaźnik wtórnego pęcznienia [*WRV*] oznaczano gravimetrycznie zgodnie ze standardową metodą [27] według zależności:

$$WRV = \left[\frac{(m_1 - m_0)}{m_0} \right] \cdot 100 \% \quad (2)$$

gdzie: m_1 – masa próbki po przetrzymywaniu w wodzie przez 20 h i odwirowaniu (4000 obr./min) w ciągu 10 min (g), m_0 – masa próbki [wcześniej przetrzymywanej w wodzie przez 20 h i odwirowanej (4000 obr./min) w ciągu 10 min] po wysuszeniu w temperaturze 105 °C (g).

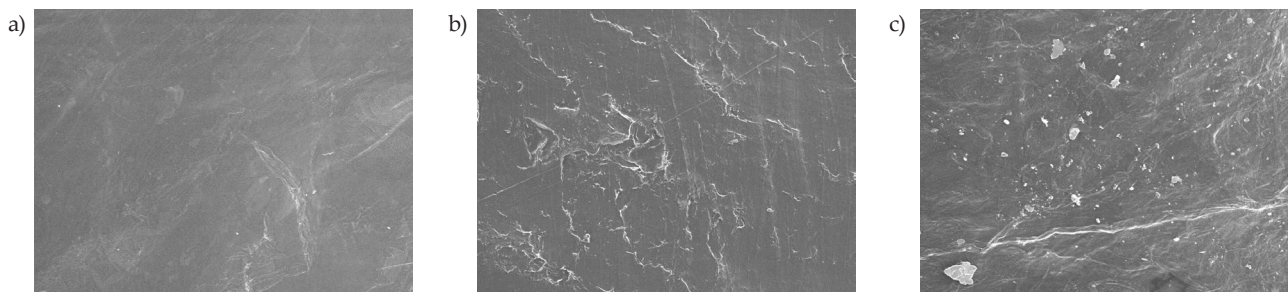
Do oceny zdolności sorpcyjnej wykorzystano błony biokompozytowe o wymiarach 2 × 2 cm, które umieszczano w wodzie dejonizowanej na 0,25; 0,5; 3,0; 5,0 i 24,0 h.

Po upływie ustalonego czasu próbki wyjmowano z kąpieli, osuszano ich powierzchnię bibułą i ważono. Zdolność sorpcyjną materiału biokompozytowego wyrażano w postaci masy pochłoniętej wody przeliczonej na 1 g błony biokompozytu [28].

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

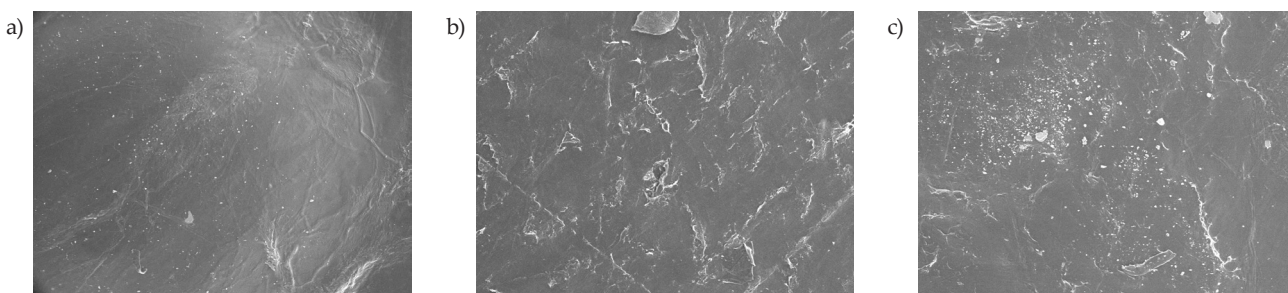
Głównym celem prowadzonych badań była ocena właściwości fizykochemicznych i termicznych oraz struktury fazowej materiałów biokompozytowych stanowiących nośnik substancji aktywnych o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbakteryjnym, stosowanych w leczeniu ran odleżynowych. Opracowane materiały opatrunkowe w postaci błon stanowią transdermalny system terapeutyczny (TTS), który pozwala na kontrolowane uwalnianie leku, umożliwia także podawanie leków rozkładanych w przewodzie pokarmowym lub ulegających szybkiemu metabolizmowi w wątrobie [20].

Oceniano wpływ udziału w wytworzonym biokompozycie składowych polisacharydów (chitozanu i alginia-



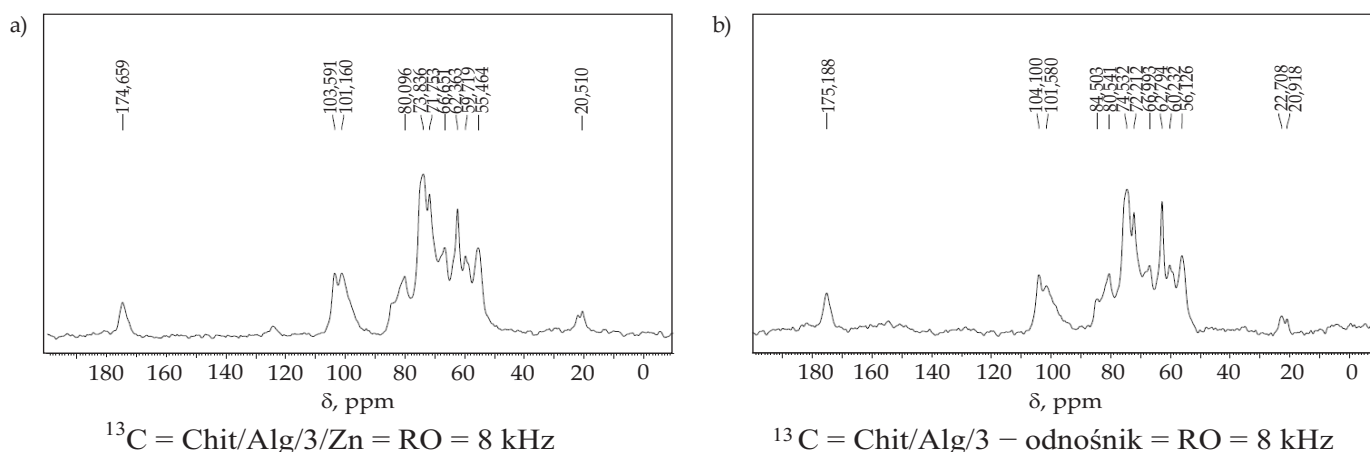
Rys. 1. SEM powierzchni błon z biokompozytu chitozanowo-alginianowego z dodatkiem siarczanu cynku: a) Chit/Alg/1/Zn, b) Chit/Alg/2/Zn, c) Chit/Alg/3/Zn, powiększenie 1000×

Fig. 1. SEM images of film surface of chitosan-alginate biocomposite containing zinc sulfate: a) Chit/Alg/1/Zn, b) Chit/Alg/2/Zn, c) Chit/Alg/3/Zn, magnification 1000×



Rys. 2. SEM powierzchni błon z biokompozytu chitozanowo-alginianowego z dodatkiem sulfanilamidu: a) Chit/Alg/1/Sul, b) Chit/Alg/2/Sul, c) Chit/Alg/3/Sul, powiększenie 1000×

Fig. 2. SEM images of film surface of chitosan-alginate biocomposite containing sulfanilamide: a) Chit/Alg/1/Sul, b) Chit/Alg/2/Sul, c) Chit/Alg/3/Sul, magnification 1000×



Rys. 3. Widmo ^{13}C CP/MAS polimerowego biokompozytu chitozanolginiowego: a) z dodatkiem siarczanu cynku (Chit/Alg/3/Zn), b) bez jego dodatku (Chit/Alg/3)

Fig. 3. ^{13}C CP/MAS spectrum of chitosan-alginate biocomposite: a) containing zinc sulfate (Chit/Alg/3/Zn), b) without the additive (Chit/Alg/3)

nu) oraz rodzaju dodanego związku bioaktywnego na budowę chemiczną i właściwości wytworzonych materiałów, w tym właściwości użytkowe, tj.: wskaźnik wtórnego pęcznienia, zdolność sorpcyjną oraz transmisję par wilgoci. Parametry te wskazują na potencjalną zdolność do utrzymywania wilgotności w obrębie rany i tym samym lepszą penetrację substancji aktywnej do jej wnętrza oraz zabezpieczenia rany przed dalszymi jej uszkodzeniami, wynikającymi z gromadzenia się zbyt dużej ilości płynów pod opatrunkiem.

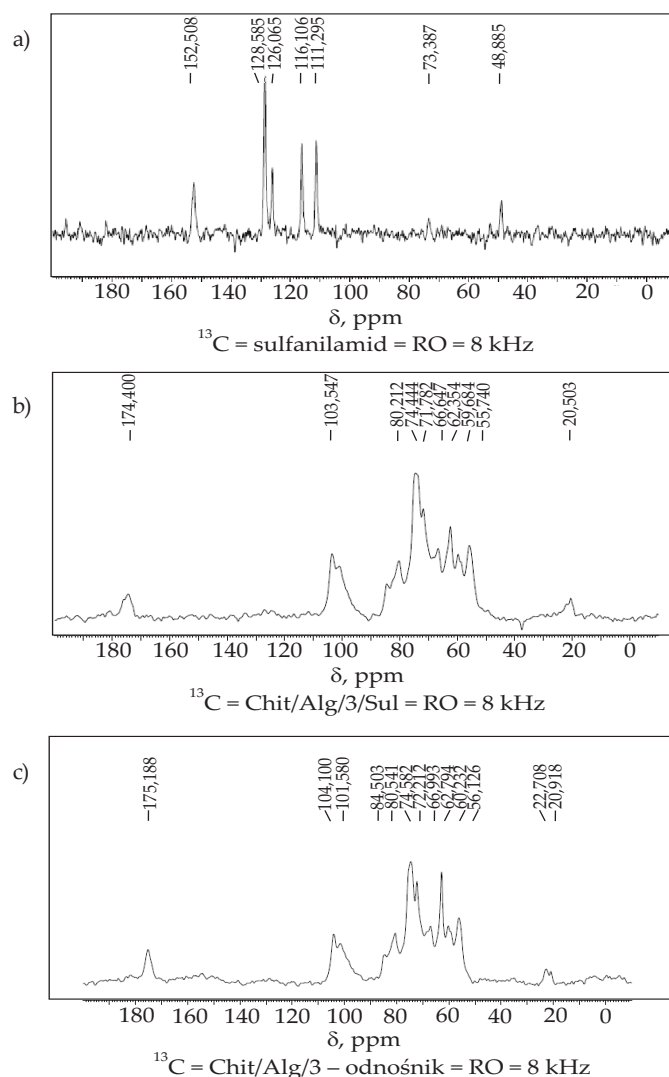
Analiza topografii powierzchni biokompozytów zawierających substancję aktywną

Wytworzono materiały biokompozytowe w postaci błon z mleczanu chitozanu i alginianu sodu z udziałem substancji leczniczych o działaniu przeciwzapalnym (siarczan cynku) lub przeciwbakteryjnym (sulfanilamid).

Jakość powierzchni otrzymanych błon oceniano z zastosowaniem mikroskopii SEM. Topografia powierzchni w wypadku biokompozytu o najmniejszej zawartości alginianu jest najbardziej jednorodna (rys. 1 i 2), ze wzrostem udziału Alg jakość powierzchni się pogarsza, a przy udziale w kompozycji 50 % mas. Alg widać wyraźne aglomeraty. Stwierdzono, że rodzaj wprowadzonego środka bioaktywnego nie ma istotnego wpływu na morfologię powierzchni wytworzonych biokompozytów.

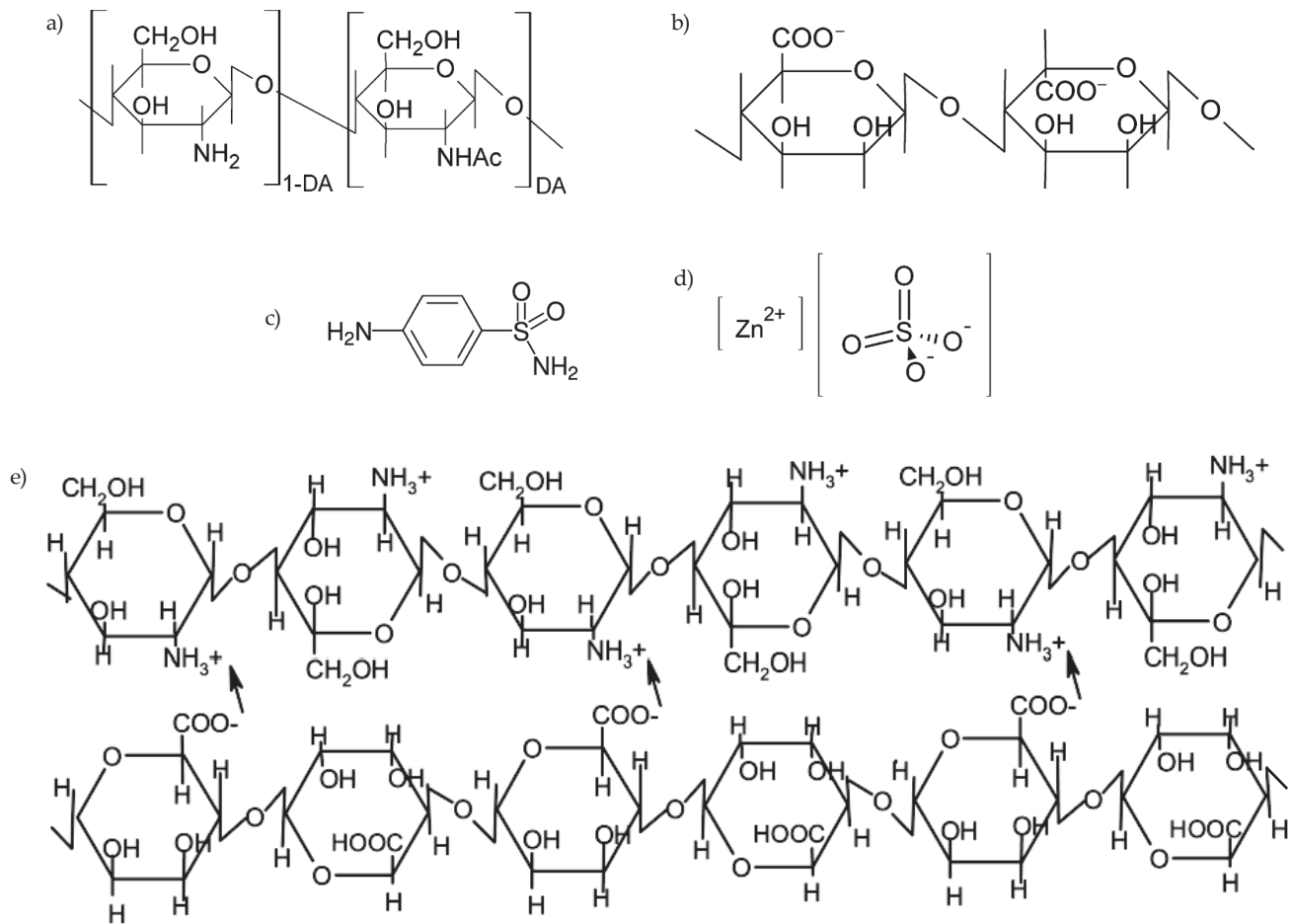
Ocena budowy chemicznej wybranych biokompozytów polimerowych metodą NMR ciała stałego

Badania strukturalne błon biokompozytowych zawierających substancje aktywne prowadzono z wykorzystaniem spektroskopii NMR ciała stałego. Do celów porównawczych przygotowano również próbki bez dodatku substancji leczniczych. Stwierdzono, że stężenie aktyw-



Rys. 4. Widmo ^{13}C CP/MAS: a) sulfanilamidu, b) polimerowego biokompozytu chitozanolginiowego z dodatkiem sulfanilamidu (Chit/Alg/3/Sul) i c) bez jego dodatku (Chit/Alg/3)

Fig. 4. ^{13}C CP/MAS spectrum of: a) sulfanilamide, b) chitosan-alginate biocomposite containing sulfanilamide (Chit/Alg/3/Sul) and c) without the additive (Chit/Alg/3)

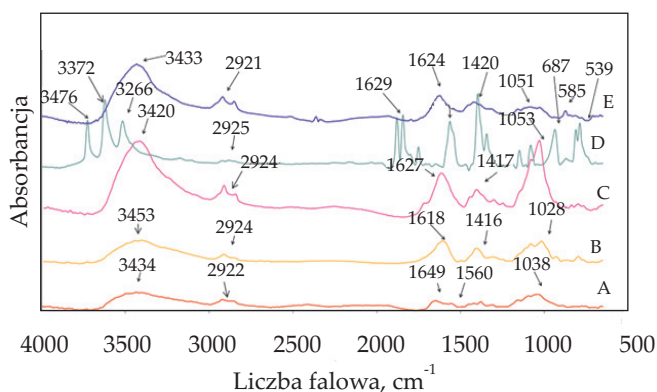


Rys. 5. Chemiczna struktura: a) chitozanu, b) alginianu sodu, c) sulfanilamidu, d) siarcznanu cynku, e) kompleksu polielektrolitowego Chit/Alg

Fig. 5. Chemical structure of: a) chitosan, b) sodium alginate, c) sulfanilamide, d) zinc sulfate, e) biocomposite Chit/Alg

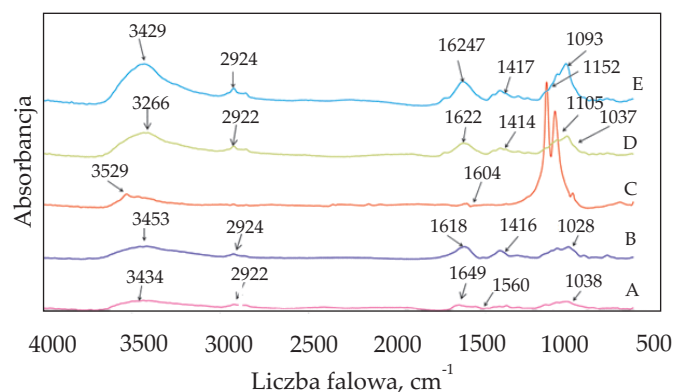
nych substancji w biokompozycie jest zbyt małe (na poziomie kilku procent), aby można je było jednoznacznie zidentyfikować zastosowaną metodą. Na rys. 3 i 4 przed-

stawiono przykładowe widma ^{13}C wykorzystanych substancji leczniczych i błon wytworzonych z dwuskładnikowych biokompozytów polimerowych.



Rys. 6. Widma FT-IR: A – mleczanu chitozanu, B – alginianu sodu, C – biokompozytu Chit/Alg/3, D – sulfanilamidu, E – biokompozytu Chit/Alg/3/Sul

Fig. 6. FT-IR: A – spectra of chitosan lactate, B – sodium alginate, C – biocomposite Chit/Alg/3, D – sulfanilamide, E – biocomposite Chit/Alg/3/Sul



Rys. 7. Widma FT-IR: A – mleczanu chitozanu, B – alginianu sodu, C – siarcznanu cynku, D – biokompozytu Chit/Alg/3/Zn, E – biokompozytu Chit/Alg/3

Fig. 7. FT-IR: A – spectra of chitosan lactate, B – sodium alginate, C – zinc sulfate, D – biocomposite Chit/Alg/3/Zn, E – biocomposite Chit/Alg/3

Analiza spektrofotometryczna w podczerwieni (FT-IR) wybranych biokompozytów polimerowych

Spektroskopia w podczerwieni (FT-IR) jest szeroko stosowana do identyfikacji oddziaływań międzycząsteczkowych w mieszaninach biopolimerowych. Właściwości takich mieszanin są wynikiem oddziaływań przez wiązania wodorowe i/lub oddziaływań elektrostatycznych między grupami funkcyjnymi składowych polimerów. Rysunek 5 przedstawia struktury chemiczne chitozanu, alginianu sodu, użytych substancji aktywnych (sulfanilamidu i siarczanu cynku) oraz dwuskładnikowego biokompozytu Chit/Alg. Widma FT-IR wytworzonych błon biokompozytowych przedstawiono na rys. 6 i 7.

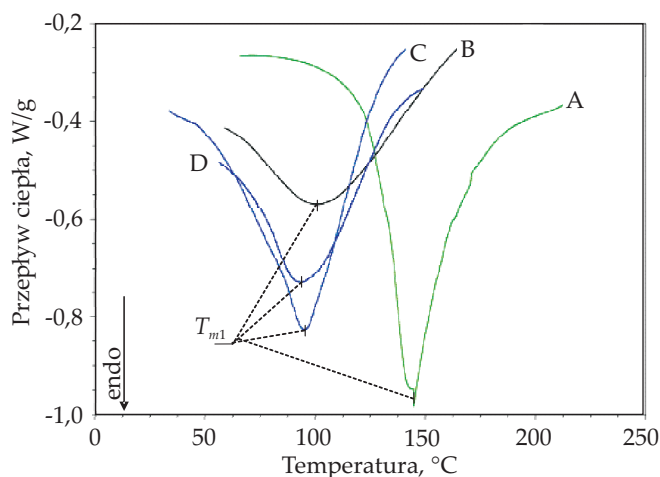
Badania spektrofotometryczne w podczerwieni FT-IR potwierdziły tworzenie się kompleksu polielektrolitowego Chit/Alg. W widmie FT-IR alginianu sodu [rys. 6 (B), 7 (B)] widoczne są dwa intensywne pasma absorpcyjne, odpowiadające symetrycznym (1618 cm^{-1}) i asymetrycznym (1416 cm^{-1}) drganiom kowalencyjnym C=O w jonie karboksylanowym, natomiast w widmie mleczanu chitozanu [rys. 6 (A), 7 (A)] w tym zakresie ($\nu = 1500\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$) występuje szereg silnie nakładających się pasm absorpcyjnych chitozanu: pasmo 1649 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających C=O grupy karbonylowej w ugrupowaniu amidowym (pasmo amidowe I), pasmo $1587\text{--}1594\text{ cm}^{-1}$ odpowiadające drganiom kowalencyjnym N-H w grupie -NH_2 (pasmo amidowe II) oraz pasmo 1560 cm^{-1} , które można przyporządkować drganiom zginającym N-H w grupie amidowej [29–31].

Pasma przy liczbie falowej 1618 i 1416 cm^{-1} w widmie alginianu sodu pochodzą od asymetrycznych i symetrycznych wiązań rozciągających grup obecnych w solach kwasów karboksylowych [32, 33]. Kompleks chitozan/alginian charakteryzują nowe pasma absorpcyjne $\nu = 1627\text{ cm}^{-1}$ oraz $\nu = 1093\text{ cm}^{-1}$ [rys. 6 (C), 7 (E)], które można przypisać deformacyjnym drganiom symetrycznym N-H w jonie -NH_3^+ , wskazujące na występowanie w formowanych błonach polielektrolitowych wiązań jonowych $\sim\text{-NH}_3^+ \dots \text{-O(O)C}\sim$ [34, 35]. W formowanych błonach biokompozytowych chitozan/alginian, oprócz wiązań jonowych, występują również wewnątrz- i międzyłańcuchowe wiązania wodorowe, które tworzą się zarówno między różnymi elementami struktury łańcucha chitozanu, jak również między chitozaniem i alginianem. Szerokie i intensywne pasmo z maksimum przy ok. 3429 cm^{-1} wskazuje na obecność zasocjowanych za pomocą wiązań wodorowych grup -OH , -NH_2 oraz -NHAc chitozanu i grup -OH alginianu [36]. Wprowadzenie do biokompozytu chitozanoliginianowej substancji leczniczej o działaniu przeciwwzapalnym w postaci siarczanu cynku nie powoduje zmian w widmie FT-IR tego materiału kompozytowego (Chit/Alg/3/Zn) [rys. 7 (D)], co może świadczyć o fizycznym tylko połączeniu tego związku z kompleksem Chit/Alg. Natomiast analiza widma FT-IR biokompozytu z dodatkiem substancji przeciwbakteryjnej w postaci sulfanilamidu Chit/Alg/3/Sul

[rys. 6 (E)] wskazuje, że pojawiło się nowe pasmo absorpcyjne przy ok. 585 cm^{-1} , co może świadczyć o chemicznej interakcji między sulfanilamidem a wolnymi grupami funkcyjnymi polielektrolitowego kompleksu Chit/Alg.

Analiza wybranych materiałów biokompozytowych w postaci błon metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej

Właściwości termiczne otrzymanych błon biokompozytowych oceniano na podstawie obserwacji procesów endo- i egzotermicznych, takich jak: topnienie (utrata wody), krystalizacja oraz przejście fazowe ze stanu szklistego do elastycznego. W tabeli 3 przedstawiono wyniki analizy DSC wytworzonych materiałów biokompozytowych z dodatkiem i bez dodatku substancji aktywnych, a na rys. 8 i 9 termogramy pierwszego grzania. Z doniesień literaturowych wiadomo, że polisacharydy wykazują silne powinowactwo do wody, a cechy ich uwodnienia zależą od ich struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej. W zależności od oddziaływań wody z łańcuchami polisacharydowymi polimery te uwalniają wodę w różnej temperaturze. Piki endotermiczne na termogramie są skorelowane z utratą wody związaną z hydrofilowymi grupami polimerów, podczas gdy piki egzotermiczne odpowiadają degradacji polielektrolitu spowodowanej odwodnieniem i depolimeryzacją. Na podstawie wyników badań DSC definiuje się trzy typy wody występującej w polimerach, są to: woda wolna ulegająca wymrożeniu (*freezing free water*), woda związana z polimerem ulegająca wymrożeniu (*freezing bound water*) i woda związana nieulegająca wymrożeniu (*non-freezing bound water*). Za obecność wody wolnej odpowiada na termogramie pik przejścia fazowego charakterystyczny dla wody naturalnej, woda silnie związana z polimerem nie ulega procesowi wymrażania i nie wykazuje przejścia fazowego I-rzędu. Natomiast w wypadku wody związanej z polimerem, lecz ulegającej wymrożeniu, na termogramie DSC jest widoczne przejście fazowe I-rzędu, ale w temperaturze niższej niż w przypadku naturalnej czystej wody [37–39]. Na termogramach DSC grzania mleczanu chitozanu (Chit), alginianu sodu (Alg), kompleksu chitozan/alginian (Chit/Alg/3) oraz kompleksu chitozan/alginian z substancją aktywną (Chit/Alg/3/Sul) i (Chit/Alg/3/Zn) zaobserwowano piki odpowiadające obecności wody ściśle związanej z grupami funkcyjnymi polimerów, nieusuniętej podczas suszenia [40]. W wyniku pierwszego grzania na krzywych termicznych DSC badanych materiałów (rys. 8 i 9) stwierdzono występowanie tylko jednego szerokiego piku o charakterze endotermicznym, odpowiadającego temperaturze topnienia wynoszącej, odpowiednio, $T_m = 144\text{ }^\circ\text{C}$ – Chit i $T_m = 107\text{ }^\circ\text{C}$ – Alg. Pojawienie się szerokiego piku endotermicznego może być związane z utratą wody zamrożonej zawartej w polimerze. Różnice w endotermicznym kształcie piku w termogramie mleczanu chitozanu, alginianu sodu, kompleksu chitozan/alginian oraz kompleksu chitozan/alginian z substancjami



Rys. 8. Termogramy DSC: A – mleczanu chitozanu, B – alginianu sodu, C – biokompozytu Chit/Alg/3, D – biokompozytu Chit/Alg/3/Sul (I grzanie)

Fig. 8. DSC thermograms of: A – chitosan lactate, B – sodium alginate, C – biocomposite Chit/Alg/3, D – biocomposite Chit/Alg/3/Sul (I heating)

aktywnymi wskazują, że polimery te różnią się siłą oddziaływania woda-polimer i rodzajem miejsc wiążących wodę (obecnością grup hydrofilowych). Mianowicie, cząsteczka wody może być związana przez grupy hydrofilowe: $-\text{COONa}$ i $-\text{OH}$ alginianu sodu, grupy $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ i $-\text{NHAc}$ chitozanu, grupy $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHAc}$ i $-\text{COO}^-\cdots\text{NH}_3^+$ kompleksu. Krystaliczność chitozanu w kompleksie maleje, zwiększa się natomiast zawartość obszarów amorficznych, struktura jest więc bardziej dostępna dla cząsteczek wody i w rezultacie więcej jej cząsteczek przenika do wnętrza matrycy polisacharydowej

T a b e l a 3. Wyniki analizy termicznej otrzymanych biokompozytów polimerowych z dodatkiem substancji aktywnych i bez dodatku

T a b l e 3. Thermal analysis of polymer biocomposites obtained with and without addition of active substances

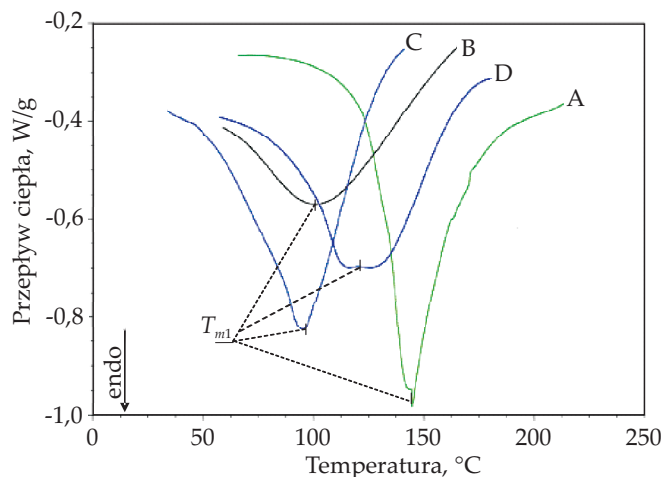
Symbol	I grzanie	
	$T_{m'}$, °C	$\Delta H_{m'}$, J/g
Chit	144,7	97,95
Alg	107,9	68,57
Chit/Alg/3	95,7	129,40
Chit/Alg/3/Sul	95,1	67,90
Chit/Alg/3/Zn	127,3	99,91

T_m – temperatura topnienia (utrata wody), ΔH_m – entalpia przemiany endotermicznej związanej z topnieniem (utrata wody).

Siarczan cynku uwodniony – $T_m = 100$ °C, sulfanilamid – $T_m = 163$ – 167 °C, gliceryna – $T_m = 18$ °C.

T_m – melting temperature (water loss), ΔH_m – endothermic transition enthalpy associated with melting (water loss).

Hydrated zinc sulfate – $T_m = 100$ °C, sulfanilamide – $T_m = 163$ – 167 °C, glycerol – $T_m = 18$ °C.



Rys. 9. Termogramy DSC: A – mleczanu chitozanu, B – alginianu sodu, C – biokompozytu Chit/Alg/3, D – biokompozytu Chit/Alg/3/Zn (I grzanie)

Fig. 9. DSC thermograms of: A – chitosan lactate, B – sodium alginate, C – biocomposite Chit/Alg/3, D – biocomposite Chit/Alg/3/Zn (I heating)

[39]. Pole powierzchni pod pikiem DSC odpowiada zmianie entalpii związanej z utratą wody zamrożonej.

Przygotowany biokompozyt o równowagowej zawartości chitozanu i alginianu (50 : 50) wykazuje obniżoną do 95 °C temperaturę utraty wody. Wprowadzenie jonów cynku do biokompozytu (Chit/Alg/3/Zn) powoduje przesunięcie maksimum przemiany endotermicznej ($T_m = 127$ °C), natomiast wprowadzenie grupy sulfanilowej nie wpływa na zmianę wartości temperatury eliminacji wody z układu Chit/Alg/3/Sul ($T_m = 95$ °C), co świadczy o różnym charakterze oddziaływań poszczególnych składników kompozytu. Mieszanki biopolimerowe z dodatkiem sulfanilamidu wykazują mniejszą stabilność termiczną niż poszczególne polimery tworzące ten polielektrolitowy kompleks.

Właściwości użytkowe otrzymanych błon biokompozytowych

Istotną cechą materiału opatrunkowego jest utrzymanie w ranie odpowiedniej wilgotności zapewniającej większą skuteczność działania stosowanego opatrunku, lepszą penetrację substancji aktywnych do wnętrza rany, a w konsekwencji szybsze jej gojenie. Bariera utrudniająca przenikanie substancji aktywnych z opatrunku do wnętrza organizmu jest skóra ludzka, szczególnie warstwa zewnętrzna, utworzona przez komórki naskórka, a procesem ułatwiającym przenikanie przez naskórek substancji aktywnej z nośnika stanowiącego opatrunek jest hydratacja. Woda powoduje spęcznienie włókien keratyny i zwiększenie przestrzeni międzykomórkowych, co korzystnie wpływa na przepuszczalność skóry [41]. Wyniki badań zestawiono w tabeli 4.

Stwierdzono, że zdolność sorpcyjna badanych błon kompozytowych zwiększa się z czasem przetrzymywania ich w wodzie. Dodatek do materiałów biokompozy-

T a b e l a 4. Właściwości użytkowe błon wytworzonych z dwuskładnikowych materiałów biokompozytowych z dodatkiem substancji aktywnej (sulfanilamid i siarczan cynku)

T a b l e 4. Functional properties of films made of two-component biocomposite materials containing active substance (sulfanilamide and zinc sulfate)

Symbol	WRV %	Czas przetrzymywania w wodzie, h	Zdolność sorpcyjna 1 g błony, g	Transmisja par wilgoci g/(m ² · 24 h)
Chit/Alg/1	1073,0	0,25	5,43	7426
		0,5	6,71	
		3,0	8,26	
		5,0	8,81	
		24,0	10,65	
Chit/Alg/1/Sul	1464,0	0,25	4,87	6738
		0,5	6,02	
		3,0	6,34	
		5,0	6,86	
		24,0	8,68	
Chit/Alg/1/Zn	729,0	0,25	6,32	6738
		0,5	6,37	
		3,0	9,26	
		5,0	10,30	
		24,0	11,96	
Chit/Alg/2	1810,0	0,25	6,89	8725
		0,5	7,81	
		3,0	8,75	
		5,0	9,11	
		24,0	10,44	
Chit/Alg/2/Sul	1673,0	0,25	7,50	8588
		0,5	9,21	
		3,0	12,38	
		5,0	12,34	
		24,0	12,40	
Chit/Alg/2/Zn	1576,0	0,25	7,13	6455
		0,5	7,33	
		3,0	7,99	
		5,0	8,07	
		24,0	8,27	
Chit/Alg/3	2017,0	0,25	7,88	10 887
		0,5	9,33	
		3,0	13,05	
		5,0	13,99	
		24,0	15,37	
Chit/Alg/3/Sul	1911,0	0,25	14,82	10 559
		0,5	17,19	
		3,0	21,78	
		5,0	24,04	
		24,0	29,46	
Chit/Alg/3/Zn	1873,0	0,25	9,92	7390
		0,5	14,06	
		3,0	18,54	
		5,0	19,59	
		24,0	21,24	

towych substancji aktywnych nie ogranicza zdolności sorpcyjnej wytwarzanych błon, a w wypadku błon kompozytowych o równowagowym udziale obu polimerów zdecydowanie ją poprawia [42, 43].

Otrzymane wartości wskaźnika wtórnego pęcznienia (*WRV*) wskazują, że zależy on od składu ilościowego badanego materiału biokompozytowego i od rodzaju wprowadzonej substancji aktywnej. Większa zawartość alginianu sodu w biokompozycie wpływa na wzrost wartości *WRV*. Największą zdolność sorpcji wody wykazywały błony wytworzone z biokompozytów o równoważnej ilości chitozanu i alginianu sodu Chit/Alg/3. Dodatek do biokompozytu (Chit/Alg) substancji o działaniu przeciwzapalnym lub przeciwbakteryjnym spowodował zmniejszenie wartości *WRV*, wyraźniejsze w wypadku wprowadzenia siarczanu cynku.

Wyznaczone wartości transmisji pary wilgoci wskazują, że wytworzone materiały biokompozytowe umożliwiają swobodne parowanie z powierzchni rany nadmiaru wilgoci, a jednocześnie nie przepuszczają wody i bakterii z zewnątrz, co pozwala na ochronę rany przed działaniem szkodliwych czynników zewnętrznych i infekcją. Należy również zwrócić uwagę, że skład ilościowy biokompozytów oraz dodatek substancji aktywnych w istotny sposób wpływa na właściwości chłonne i sorpcyjne badanych materiałów. Poznanie tych cech jest ważne ze względu na praktyczne wykorzystanie takich materiałów opatrunkowych.

PODSUMOWANIE

Na bazie dwuskładnikowych biokompozytów mleczanu chitozanu i alginianu sodu wytworzono jednowarstwowe błony, przeznaczone do leczenia trudno gojących się ran odleżynowych. Opracowane biokompozyty stanowią nośnik substancji leczniczych o działaniu przeciwzapalnym (siarczan cynku) i przeciwbakteryjnym (sulfanilamid). Badania spektroskopowe NMR biokompozytów zawierających aktywne składniki farmakologiczne nie pozwoliły na jednoznacznie ich identyfikację i określenie charakteru oddziaływań między składnikami materiału. Wyniki spektroskopii FT-IR wykazały, że między sulfanilamidem a polimerami tworzącymi biokompozyt zachodzi chemiczna interakcja, co potwierdziła również analiza termiczna, wskazując, że dodatek sulfanilamidu poprawia mieszalność układu Chit/Alg. Wykazano, że skład ilościowy biokompozytów w istotny sposób wpływa na właściwości chłonne i sorpcyjne wytworzonych błon. Opracowane materiały biokompozytowe spełniają podstawowe wymagania użytkowe, co stwarza potencjalną możliwość ich wykorzystania do opracowania funkcjonalnego opatrunku przydatnego w leczeniu odleżyn w trzech pierwszych fazach gojenia.

LITERATURA

[1] Walden-Gałuszko de K.: „Podstawy opieki paliatywnej”, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004, wyd. 1, ISBN: 83-200-2767-5, str. 320.

- [2] Sternal D.: *Problemy Pielęgniarstwa* **2008**, 16 (1–2), 9.
- [3] Łuczak J., Sopata M.: *Przewodnik Lekarza* **2001**, 7, 120.
- [4] Rinaudo M.: *Progress in Polymer Science* **2006**, 31, 603. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- [5] Minagawa T., Okamura Y., Shigemasa Y. i in.: *Carbohydrate Polymers* **2007**, 67, 640.
- [6] Rinaudo M.: *Polymer International* **2008**, 57 (3), 397. <http://dx.doi.org/10.1002/pi.2378>
- [7] Croisier F., Jérôme Ch.: *European Polymer Journal* **2013**, 49, 780. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009>
- [8] Jayakumar R., Prabakaran M., Sudheesh Kumar P.T. i in.: *Biotechnology Advances* **2011**, 29, 322. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.005>
- [9] Mohy Eldin M.S., Soliman E.A., Hashem A.J., Tamer T.M.: *Trends in Biomaterials and Artificial Organs* **2008**, 22 (3), 154.
- [10] Tønnesen H.H., Karlsen J.: *Drug Development and Industrial Pharmacy* **2002**, 28 (6), 621. <https://doi.org/10.1081/DDC-120003853>
- [11] Murakami K., Aoki H., Nakamura S., Takikawa M. i in.: *Biomaterials* **2010**, 31, 83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.031>
- [12] Pielesz A.: „Algi i alginiany, leczenie, zdrowie, uroda”, Wydawnictwo internetowe e-bookow, 2010, ISBN 978-83-61184-97-3, str. 43–79.
- [13] Sæther H.V., Holme H.K., Maurstad G. i in.: *Carbohydrate Polymers* **2008**, 74, 813. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.048>
- [14] Luo Y., Wang Q.: *International Journal of Biological Macromolecules* **2014**, 64, 353. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.017>
- [15] Rishabha M., Pranati S.: *Polimery w Medycynie* **2011**, 41 (3), 45.
- [16] Guarino V., Caputo T., Altobelli R., Ambrosio L.: *AIMS Materials Science* **2015**, 2 (4), 497. <http://dx.doi.org/10.3934/mat.2015.4.497>
- [17] Sukhodub L.F., Sukhodub L.B., Chorna I.V.: *Biopolymers and Cell* **2016**, 32 (2), 83. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000910>
- [18] Shen H., Li F., Wang D., Yang Z. i in.: *Drug Design, Development and Therapy* **2018**, 12, 921. <http://dx.doi.org/10.2147/DDDT.S158001>
- [19] Wang G., Wang X., Huang L.: *Biotechnology and Biotechnological Equipment* **2017**, 31 (4), 766. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1332493>
- [20] „Farmakopea Polska VIII”, Tom III, Wydawnictwo PTFarm, Warszawa 2008, str. 2981–2982, 3249–3250.
- [21] Zejc A., Gorczyca M.: „Chemia leków. Podręcznik dla studentów farmacji i farmaceutyków”, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2008, wyd. III, ISBN: 978-83-200-3652-7, str. 617–635.
- [22] Bles N.: „ABC mikroelementów. Rola mikroelementów w leczeniu różnych dolegliwości”, Wydawnictwo Świat Książki, Warszawa 2008, str. 176.
- [23] Procedura SPR/BLF/14- FT-IR spektrometria w podcierwieni, według GLP Nr G-016, IBWCh 2005.

- [24] Morcombe C.R., Zilm K.W.: *Journal of Magnetic Resonance* **2003**, 162, 479.
- [25] Metz G., Wu X., Smith S.O.: *Journal of Magnetic Resonance* **1994**, 110, 219.
- [26] Bennett A.W., Rienstra C.M., Auger M. i in.: *Journal of Chemistry and Physics* **1995**, 103 (16), 6951.
- [27] Procedura SPR/BPB/14 – Oznaczanie WRV chitozanu wyjściowego i chitozanu mikrokrystalicznego, według GLP Nr G-016, IBWCh 2005.
- [28] Kucharska M., Niekraszewicz A., Wiśniewska-Wrona M., Brzoza-Malczewska K.: *Fibres and Textiles in Eastern Europe* **2008**, 16 (68), 109.
- [29] Smitha B., Sridhar S., Khan A.A.: *European Polymer Journal* **2005**, 41, 1859.
- [30] Lawrie G., Keen I., Drew B.: *Biomacromolecules* **2007**, 8, 2533.
<http://dx.doi.org/10.1021/bm070014y>
- [31] Leceta I., Guerrero P., de la Caba K.: *Carbohydrate Polymers* **2013**, 93, 339.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.031>
- [32] Sartori C., Finch D.S., Ralph B.: *Polymer* **1997**, 38, 43.
- [33] Rao C.N.R.: "Chemical Applications of Infrared Spectroscopy", Academic Press, New York 1963, Reprinted several times.
- [34] Jana S., Kumar Trivedi M., Mohan Tallapragada R. i in.: *Pharmaceutica Analytica Acta* **2015**, 6 (430), 1.
<http://dx.doi.org/10.4172/21532435.1000430>
- [35] Kulig D., Zimoch-Korzycka A., Jarmoluk A. i in.: *Polymers* **2016**, 8, 167.
<http://dx.doi.org/10.3390/polym8050167>
- [36] Struszczyk M.H.: *Polimery* **2002**, 47, 316.
- [37] Pereira R., Tojeira A., Vaz D.C. i in.: *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* **2011**, 16, 449.
<http://dx.doi.org/10.1080/1023666X.2011.599923>
- [38] Hodge R.M., Edward G.H., Simon G.P.: *Polymer* **1996**, 37, 1371.
- [39] Ostrowska-Czubenko J., Gierszewska-Drużyńska M.: *Carbohydrate Polymers* **2009**, 77, 590.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.036>
- [40] Mucha M., Pawlak A.: *Thermochimica Acta* **2005**, 427, 69.
- [41] Bodek K.H.: Rozprawa habilitacyjna „Ocena przydatności mikrokrystalicznego chitozanu jako polimerowego nośnika leków”, Wydawnictwo Akademia Medyczna, 2002, str. 217.
- [42] Wiśniewska-Wrona M., Kucharska M., Niekraszewicz A. i in.: *Polimery w medycynie* **2010**, 40 (2), 57.
- [43] Wiśniewska-Wrona M., Kucharska M., Kardas I. i in.: *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives* **2011**, Polish Chitin Society, vol. XVI, str. 111–120.

Otrzymano 20 II 2018 r.
Wersja skorygowana 5 VI 2018 r.