

Biopolimerek antibakteriális hatással

Nagy Edit¹, Mihály Judith², Telegdi Judit^{3,4}

¹Anyagtudományok és Technológiák Doktori Iskola, Óbudai Egyetem

²Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Farmakológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia

³Terméktervező Intézet, Óbudai Egyetem

⁴Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia

Kulcsszavak: Polilaktosav, természetes polimer, biológiailag lebomló, antibakteriális, sebgyógyulást segítő, speciális tulajdonságú textíliák

Az egészségügyben, a kórházi vagy otthoni ápolás gyakorlatában, széles körben használnak textíliákat. A hagyományos és a műszaki textíliák egészségügyi felhasználásának rendkívül változatos formái vannak. Az eltérő felhasználási területek más tulajdonságokkal bíró alapanyagokat követelnek meg. Az egészségügyben leggyakrabban felhasznált textil szálanyagok:

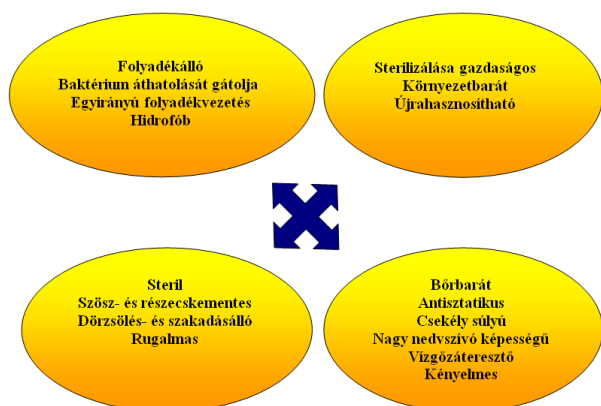
1. természetes szálak: pamut, selyem, cellulóz;
2. természetes alapú mesterséges szálak: szénszál, üvegszál, kollagén, lyocell, alginát;
3. mesterséges szálak: poliészter, poliamid, poliolefin, poliakrilnitril, politetrafluoretén, poliglikolid, poliuretán.

E szálanyagoknál kötással, szövással vagy nemszött technológiával állítanak elő egészségügyi textíliákat. Az orvos és a beteg közös érdeke, hogy a textília megfelelő védelmet biztosítson folyadék, gáz, szilárd részecskék, mikroorganizmusok ellen. Igen fontos a használat során fellépő mechanikai igénybevételekkel szembeni tartósság, a megfelelő szakító-, repeszto-szilárdság és a nyúlás. Az egészségügyi textíliákkal szemben támasztott követelmények az 1. ábrán láthatók.

Az alkalmazott kötszer csak ideiglenesen van jelen a testen és főleg védelmi szerepe van. A testen belül alkalmazott sebvarró cérnának viszont biológiailag lebomló anyagból kell készülnie, más szövetekkel összeférhetőnek (biokompatibilisnek) kell lennie.

Az egyre szigorúbb minőségi követelmények miatt e területen új technológiával készült anyagok kerülnek előtérbe.

A biológiailag lebomló, szintetikus polimerek kutatása különösen fontos az orvosi eszközök előállításánál és egyre nagyobb jelentőséggel bír az orvosbiológia terü-



1. ábra. Az egészségügyi ruházattal szemben támasztott követelmények [2]

letén. Ezek az anyagok jól használhatók varratok, gézek és kötözőanyagok előállítására.

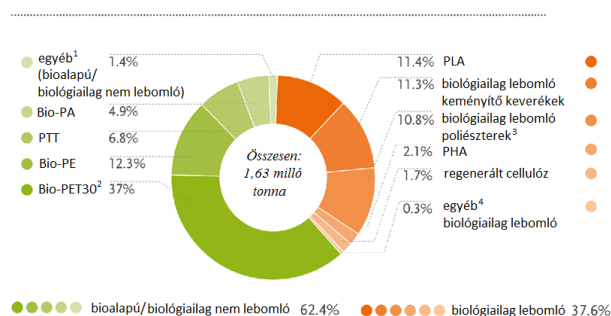
A biodegradálható anyagok a természetben megtalálható mikroorganizmusok segítségével bomlanak le egyszerű vegyületekre: vízre és széndioxidra, valamint az élő szervezetek által hasznosítható, egyéb anyagokra. A lebomlási folyamat jellege és sebessége a külső körülményektől függ: a hőmérséklettől, páratartalomtól éppúgy, mint a jelenlévő mikroorganizmusoktól.[1]

A polimerek valamint a kopolimerek típusa mellett egy adott termék lebomlását nagymértékben meghatározza annak molekulatömege is.

Az European Bioplastics által közétett kimutatás alapján a biopolimerek előállítása, valamint piaci megoszlása a 2. és 3. ábra szerint alakult.

A biodegradálható polimereket a gyógyászatban elsősorban a sebészetben, valamint a gyógyszerhordozó rendszerekben alkalmazzák.

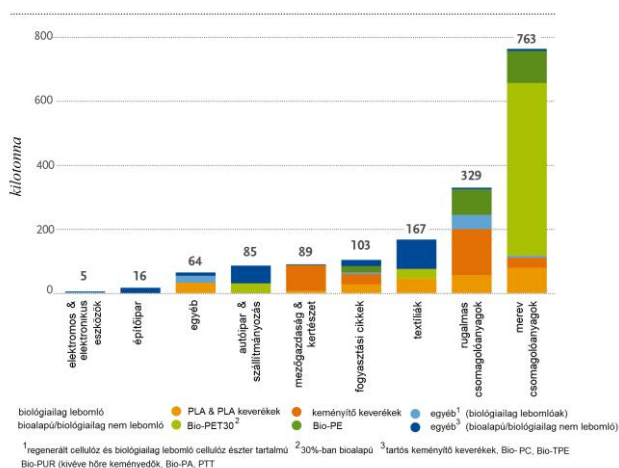
A felszívódó, szintetikus sebvarró fonalak között a **poliglikolsav** alapú fonalak fordulnak elő leggyakrabban. Az egyik legtöbbet vizsgált, teljesen szintetikus, felszívódó polimer a poliglikolsav (PGA), amely a legegyszerűbb lineáris alifás poliészter. A poliglikolsavból készített szálaknak nagy a szilárdsága és a modulusa, azonban túl merevek ahhoz, hogy varratanyagként alkalmazhassák, kivéve a fonatolt formában. PGA varrat már 2 hét után elveszíti a szilárdsága 50%-át, 4 hét után már közel 100 %-át, majd 4-6 hónap alatt teljesen felszívódik. A glikol más monomerekkel történő kopolimerizációja csökkentett merevségű szálakat eredményez.



¹ tartós keményítő keverékeket tartalmaz, Bio-PC, Bio-TPE, Bio-PUR (kivéve hőre keményedők) ² 30%-ban bioalapú ³ PBAT, PBS, PCL tartalmú ⁴ biológiailag lebomló cellulóz észter

2. ábra. Biopolimerek termelési kapacitása és felhasználása anyagfajták szerint, a 2013-as adatok alapján [3]

Rövidítések: PA-poliamid, PTT-politrimetilen-tereftalát, PE-polietilén, PET-polietilén-tereftalát, PLA-polilaktosav, PHA-polihidroxialkanoát, PC-polikarbonát, TPE-hőre lágyuló elasztomer, PUR-poliuretán, PBAT-poli(butilén-adipát-tereftalát), PBS-poli(butilén-szukcinát), PCL-polikaprolakton



3. ábra. Biopolimerek termelési kapacitása és felhasználása piaci szegmensek szerint, a 2013-as adatok alapján [4]

Rövidítések: PLA-politejsav, PET-polietilén-tereftalát, PE-polietilén, PC-polikarbonát, TPE-hőre lágyuló elasztomer, PUR-poliuretán, PA-poliamid, PTT-politrimetilén-tereftalát

A **politejsav** (PLA) tejsavból állítható elő polikondenzációval. A poli(l-tejsav) homopolimerje (LPLA) részben kristályos polimer, nagy a húzószilárdsága, kicsi a nyúlása és nagy a modulusa. Ezek a tulajdonságai teszik alkalmassá a gyógyászatban teherviselő elemek, mint például ortopédiai rögzítők, vagy varratfonal készítésére. LPLA közel két év alatt bomlik le teljesen az emberi szervezetben. A poli(dl-tejsav) amorf szerkezetű anyag, a tejsav két izomerje véletlen eloszlással van jelen a polimerben; kicsi a húzószilárdsága, nagyobb mértékű a nyúlása és jelentősen rövidebb idő alatt lebomlik, mint a LPLA. Az előbb említett tulajdonságai miatt előszeretettel alkalmazzák felszívódó, gyógyszerhordozó és adagoló rendszerekben. Gyakran kopolimerizálják a két monomert, hogy javítsák a mechanikai tulajdonságokat, valamint gyorsítsák a felszívódás folyamatát.

A **politejsav-glikolsav** kopolimer a tejsav és a glikolsav dimerjének kopolimerizációja során keletkezik. Legkülönbözőbb célra alkalmazzák ezt a polimert az orvostechikában, mivel rendkívül széles tartományon belül változtathatók a mechanikai és degradációs tulajdonságai. Az első klinikailag alkalmazott felszívódó PGA/PLA kopolimer a 90/10 PGA/PLA kopolimer volt, amely a PGA-ból készült fonatolt varrathoz hasonlított leginkább. A beültetés után 90–120 nap alatt felszívódott, gyorsabban, mint a PGA, a szilárdságát pedig hosszabb ideig megtartotta. [5]

Az **almasav** (C₄H₆O₅) savanykás ízű, szerves hidroxidikarbonsav, ami számos savanyú ételben megtalálható. Szintelen kristályokat alkot, higroszkópos vegyület. Jól oldódik vízben és alkoholban. A biológiai almasavak homokirálisak és csak az l(-)-almasav enantiomer formában fordulnak elő a természetben. Az almasav a hidroxikarbonsavak általános tulajdonságait mutatja. Jellemzőek rá mind a hidroxilcsoport, mind a karboxilcsoport reakciói. Kétértékű savként viselkedik, léteznek normál és savanyú sói is. A legelterjedtebb növényi savak közé tartozik.

A citromsavciklus (más néven Szent-Györgyi-Krebs-ciklus, trikarbonsavciklus, citrátkör) alapvető fontosságú anyagcsere-folyamat minden olyan élő sejtben, amely oxigént használ a sejtlégzés folyamatában

[6]. Az emberi szervezet rendelkezik egy olyan enzimmel, amely a d-almasavat l-optikai izomerré tudja átalakítani, és ebben a formában már képes részt venni az anyagcserében. Az adalékanyagként felvett almasav teljes mértékig hasznosul. A sejtbe bekerülő almasav teljes egészében lebomlik széndioxidra és vízre.

Azokon a területeken, ahol a tejsav alapú poliészterek sikeresen alkalmazhatók, az almasav alapú polimerek is várhatóan felhasználhatók lesznek.

A **polialmasav** (PMA) egyik fő felhasználási területe a gyógyszerhordozók előállítása, amelyek során általában kopolimereket (leggyakrabban tejsavval vagy ε-kaprolaktámmal kombinálva) állítanak elő. Az így nyert polimer gyakran térhálós szerkezetű, amelynek a kialakítása történhet polikondenzációval [7] vagy aktivált polialmasav kollagénnel [8] történő keresztlinkelésével.

Kereskedelmi forgalomban van egy rákellenes gyógyszer [9], amelyben a polialmasav biodegradábilis, nemtoxikus gyógyszerhordozó szerepét tölti be.

Az almasav homo- és kopolimerjeinek előállítására az irodalomban háromféleképpen valósulhat meg:

1. baktériumtörzsekkel biológiai (biotechnológiai) előállítás [10,11],
2. lakton prekursor monomerek gyűrűfelynyílásos polimerizációja [12,13],
3. polikondenzáció [14–16].

A molekulában található hidroxil csoport révén a polikondenzáció az almasav molekulák között játszódik le, de beszámolnak olyan anyag előállítási módokról is, amelyben olyan vegyületet adnak rendszerhez, amely több OH csoportot tartalmaz [17]. Erre azért van szükség, mert az OH és COOH csoportok aránya az almasav molekulán belül 1:2, ezért a polikondenzációs reakció hamar leáll, az OH csoportok elfognak, és így főként oligomereket lehet előállítani. Amennyiben nagyobb móltömegű termékre van szükség, OH csoportokat tartalmazó komonomereket kell alkalmazni. Így válik érthetővé, hogy miért fontos komonomerek alkalmazása a kondenzációs reakcióban, amely folyamatokat különböző fémvegyületekkel és esetenként enzimekkel katalizálják.

A nagyobb móltömegű polimerek alkalmasak arra, hogy mag-hej szerkezetek héjanyagjául szolgáljanak. Így szintetizálni lehet mikrokapszulázott, szabályozott hatóanyag-leadó rendszert, amikor is egyrészt a maganyagként használt gyógyszert megóvjuk az idő előtti elbomlástól, másrészt javíthatjuk a hagyományos terápia során adott gyógyszer hatásidejét, adott helyhez juttatását és ezáltal hatékonyságát.

Számos maganyagot lehet kapszulázni, mint például élő sejteket, aromákat, mezőgazdasági vegyszereket, enzimeket, gyógyszereket [18]. A mikrokapszulák - hasonlóan a kapszulákhoz - megfelelő fedőréteggel bevont hatóanyag-részecskéket, szemcséket jelentenek, csupán méretükben térnek el a kapszuláktól. Az sem ritka, hogy a kapszulák mikrokapszulákat tartalmaznak, ezzel biztosítva a nyújtott hatást. A gyógyszerfejlesztők a már ismert hatóanyagok alkalmazhatóságát hivatottak kényelmesebbé, egyszerűbbé, praktikusabbá tenni.

Az alábbi bemutatott munkában a kopoli(l-almasav) térhálók előállítását és jellemzését mutatjuk be. Ennek során a poli(l-almasav) láncokba olyan komonomereket (β-ciklodextrin, rezorcin, szalicilsav) építettünk be illetve alkalmaztunk kiegészítő anyagként, amelyektől a felhasználás során különleges tulajdonságokat várunk. Ezen túlmenően textillel kombinálva kívánjuk a tovább-

biakban érvényesíteni e vegyületcsalád különleges, elsősorban antibakteriális hatását.

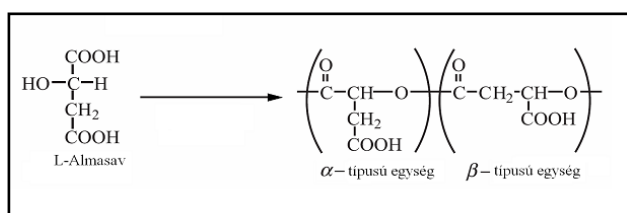
Anyagok és módszerek

A PMA szintézise

Szintetikusan előállított, kereskedelmi l-almasavból kiinduló polikondenzációnál a kiindulási monomer argon gáz alatt melegítve 120°C-on megömlött, majd az ömledéket vákuumban, 130°C-on kevertetve folyamatosan távolítottuk el a polikondenzáció során keletkezett vizet.

Az almasav tömb polikondenzációja csak egy szűk hőmérséklet intervallumban lehetséges. A monomer olvadáspontja 101–104 °C, de 140 °C felett jelentkező bomlás miatt már nem polikondenzáció történik, hanem mellékreakciók lépnek fel (pl. vízvesztéssel fumársav keletkezik). A végtermék tisztítása acetonos kezeléssel történt.

A reakció sémáját mutatja be a 4. ábra.



4. ábra. Az l-almasav polikondenzációja

Kopolimerek szintézise

A kopolimerek előállítása is direkt polikondenzációval történt L-almasavból és a komonomerból. A reakció körülményei megegyeztek a fent leírtakkal.

A végtermékek tisztítására a közti és végtermék különböző oldékonysági tulajdonságait használtuk ki.

A termékek jellemzése

A reakciótermékek jellemzésére alapvetően kétféle módszert alkalmaztunk. Az egyik az infravörös spektroszkópia, a másik pedig a specifikus optikai forgatóképesség mérése.

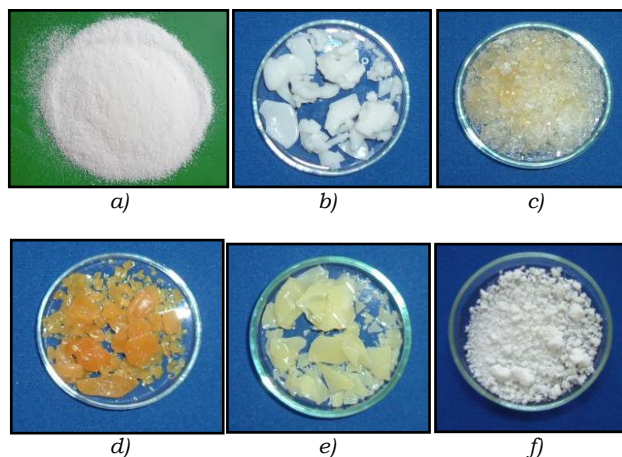
Az infravörös spektroszkópiás mérésekhez a mintát közvetlenül, előkészítés nélkül használtuk fel. Az FT-IR ATR módszer lehetővé teszi, hogy a víz adszorpciója által okozott ellenőrizhetetlen reakciók megzavarják a mérést. Műszerünk SPECAC 'Golden Gate' ATR-vel felszerelt Varian Scimitar 2000 FT-IR spektrométer volt.

A specifikus optikai forgatóképesség mérése AA-10R Automata Polariméteren történt. A vizsgált anyagokat vízben, 2%-os koncentrációban oldottuk.

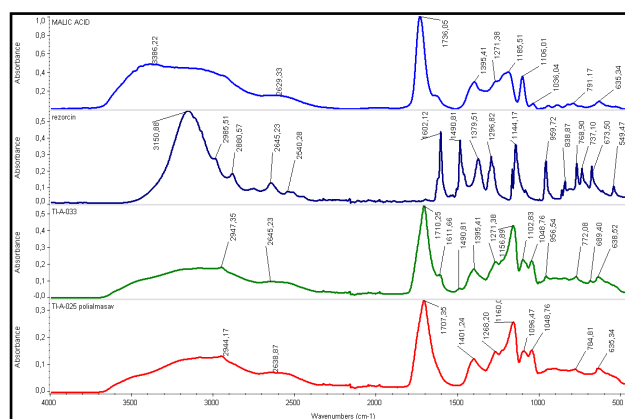
Eredmények

A polialmasavat, valamint a különböző komonomerekből és adalékanyagból álló, várhatóan antibakteriális hatású vagy sebgyógyulást elősegítő kopolimereket reprodukálhatóan állítottuk elő. A mono-, homo- és kopolimerek külsőleg különböznek (szín, morfológia) (5. ábra).

Az előállított poliészterek jellemzése infravörös-spektroszkópiával és optikai forgatóképesség-méréssel történt. Az FTIR görbék alapján megállapítottuk, hogy a komonomerek beépültek a polikondenzátumba, ugyanis a spektrumok analízise alapján a molekulát felépítő csoportokra jellemző sávok megjelennek a termékekben.



5. ábra. Kiindulási anyag és a szintetizált anyagok: a.) L-alma-sav, b.) Polialmasav (PMA), c.) PMA β-ciklodextrinnel, d.) PMA rezorcinnal, e.) PMA szalicilsavval és f.) PMA cink-oxiddal



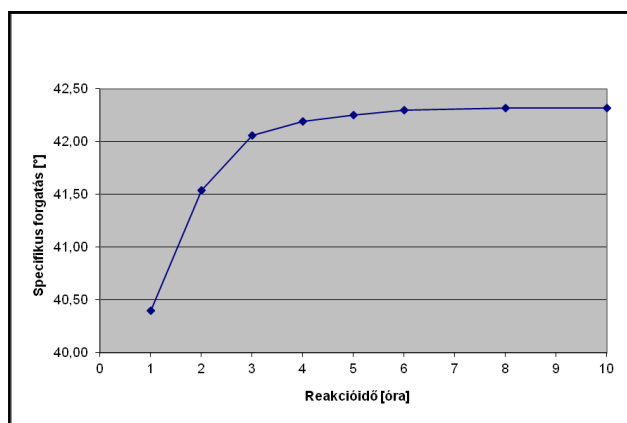
6. ábra. IR spektrumok: L-alma-sav, rezorcin, PMA rezorcinnal és PMA

A jellemző FTIR spektrumokat az egyik termék, a rezorcint tartalmazó polikondenzátum esetében mutatjuk be (6. ábra).

A polikondenzátumok másik jellemzési lehetősége a fajlagos optikai forgatásértékek követése, meghatározása volt. Mivel a kiindulási almasav és a β-CD optikai centrumokkal rendelkezik, lehetővé vált a reakciók előrehaladtának követése, illetve a végtermékek jellemzése. A vizsgált termékek specifikus forgatásértékeit foglalja össze az I. táblázat.

I. táblázat. Az előállított polikondenzátumok specifikus forgatásértékei (c=2%; λ=589 nm, szobahőmérséklet)

Monomerek a reakcióban	Reakció idő [h]	Reakció hőmérséklet [°C]	[α] _D (c=2%, λ=589 nm)
L-alma-sav	12	130	-22,2° (víz)
L-alma-sav + β-CD	2	130	+35,2° (víz)
L-alma-sav + β-CD	10	140	+42,5° (víz)
L-alma-sav + rezorcin	5	130	-21,5° (víz)
L-alma-sav + szalicil-sav	5	130	-22,9° (víz)



7. ábra. Az almasav és a β -ciklodextrin kopolimerizációs reakciója során mért specifikus optikai forgatásértékek változása (monomer arány: (3:1); 130°C)

Az I. táblázat adatai egyértelműen bizonyítják, hogy az almasavból polikondenzációval keletkező termék specifikus optikai forgatási-értéke megnövekszik; ha pedig β -CD épül a polimerbe, a reakciómenet még inkább követhető a specifikus forgatásértékek alapján (7. ábra), mivel a β -CD önmagában nagy fajlagos optikai forgatóképességgel rendelkezik. A tiszta polialmasav rideg, törékeny. Amennyiben β -CD-nel kombináljuk, a mechanikai tulajdonságai a komonomer arányának függvényében javultak. A folyamatban a β -CD beépülése és a keletkező polimer molekulatömege így módon jól szabályozható.

Az antibakteriális hatékonyság ellenőrzésére különböző módszerekkel előkísérleteket végeztünk ATCC 25922 *Escherichia coli* törzsszel. Két kopolimer mutatott antimikrobiális aktivitást. További tesztek is folyamatban vannak más mikroorganizmusokkal.

Ezen kopolimerek jelenleg antibakteriális vizsgálat tárgyát képezik ATCC 25922 *Escherichia coli* törzsszel. Az előzetes eredmények alapján elmondhatjuk, hogy két polikondenzátum mutatott antibakteriális hatást ezen patogén mikroorganizmussal szemben.

Összefoglalás

Az poli(tejsav) és poli(glikolsav) valamint ezek egyes polimerjeinek példáján elindulva reprodukálhatóan állítottuk elő az almasav homo- és kopolimerjeit közvetlen polikondenzációs reakcióval. A termékeket FT-IR és specifikus forgatásértékekkel jellemeztük. A vizsgálati eredmények segítségével előre tervezhető tulajdonságokkal rendelkező polikondenzátumokat állítottunk elő, amelyek alkalmasak patogén mikroorganizmusok életfolyamatainak befolyásolására, önmagukban illetve textilián rögzített formában.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Hanczvikkal Adriennek a mikrobiológiai vizsgálatok elvégzéséért.

Felhasznált irodalom

- [1] <https://sites.google.com/site/plasticehungary/bioplastics>
- [2] Szőcsné Nagy Edit: *Pamut textíliák mikrobiológiai vizsgálata*, szakdolgozat, Budapesti Műszaki Főiskola, **2007**, 10-11
- [3] <http://en.european-bioplastics.org/market/market-development/production-capacity/>
- [4] <http://en.european-bioplastics.org/market/market-development/>
- [5] Kalmár Viktória, Sélley Torda László: *Felszívódó implantátumok alapanyagai*, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Villamosmérnöki Kar, **2012**
- [6] Kovács Kálmán-Halmos Miklós: *A szerves kémia alapjai*, Tankönyvkiadó, Budapest **1972**.
- [7] El Matni, Nada; Labarre, Denis; Fessim, Hatem: *Biodegradable polycarboxylic-based crosslinked copolymers for pharmaceutical supports*; WO9808897, **1998S**.
- [8] Kajiyama, Tetsuto; Kobayashi, Hisatoshi; Taguchi, Tetsushi; Saito, Hirofumi; Kamatsu, Yu; Kataoka, Kazunori; Tanaka, Junzo: *Synthesis of activated poly(α,β -malic acid) using N-hydroxysuccinimide and its gelation with collagen as biomaterials*; Materials Science & Engineering, C: Biomimetic and Supramolecular Systems, **2004**, C24, 6-8, 815-819.N.
- [9] Lee, Bong-Seop; Fujita, Manabu; Khazenon, Natalya M.; Wawrowsky, Kolja A.; Wachsmann-Hogiu, Sebastian; Farkas, Daniel L.; Black, Keith L.; Ljubimova, Julia Y.; Holler, Eggehard: *Polycefin, a New Prototype of a Multifunctional Nanoconjugate Based on Poly(β -L-malic acid) for Drug Delivery*; Bioconjugate Chemistry, **2006**, 17, (2), 317-326.T.
- [10] Holler, Eggehard: *Production of long chain unbranched β -poly(L-malic acid) by large scale Physarum cultivation and high-grade purification of the same* US 20100216199, **2010**
- [11] Xiang Zou, Yipin Zhou, Shang-Tian Yang: *Production of polymalic acid and malic acid by Aureobasidium pullulans fermentation and acid hydrolysis*, Biotechnology and Bioengineering **2013**, 110, (8), 2105-2113
- [12] Matsushima, Kinichi: *Action of poly-L-malic acid on various proteolytic enzymes*; Agricultural and Biological Chemistry, **1970**, 34, (11), 1741-1744.
- [13] Guérin, Ph.; Francillette, J.; Braud, C.; Vert, M.: *Benzyl esters of optically active malic acid stereocopolymers as obtained by ring-opening polymerization of (R)-(+)- and (S)-(-)-benzyl malolactonates*; Makromolekulare Chemie, Macromolecular Symposia, **1986**, 6, 305-314.
- [14] Kajiyama, Tetsuto; Taguchi, Tetsushi; Kobayashi, Hisatoshi; Kataoka, Kazunori; Tanaka, Junzo: *Synthesis of high molecular weight poly(α,β -malic acid) for biomedical use by direct polycondensation*; Polymer Degradation and Stability, **2003**, 81, (3), 525-530.
- [15] Kajiyama, Tetsuto; Kobayashi, Hisatoshi; Taguchi, Tetsushi; Kataoka, Kazunori; Tanaka, Junzo: *Improved synthesis with high yield and increased molecular weight of poly(α,β -malic acid) by direct polycondensation*; Biomacromolecules, **2004**, 5, (1), 169-174.
- [16] Dong, Jian; Bian, Zhonghua: *Method for preparing biodegradable poly(malic acid) material*; CN102002148, **2011**
- [17] Wan, Yuqing; Feng, Gang; Shen, Francis H.; Balian, Gary; Laurencin, Cato T.; Li, Xudong: *Novel biodegradable poly(1,8-octanediol malic) for annulus fibrosus regeneration*; Macromolecular Bioscience, **2007**, 7, (11), 1217-1224.
- [18] Kreitz M, Brannon-peppas L, Mathiowitz E. *Microencapsulation Encyclopedia of controlled drug delivery*. John Wiley Sons publishers, **1999**, 493-532.