

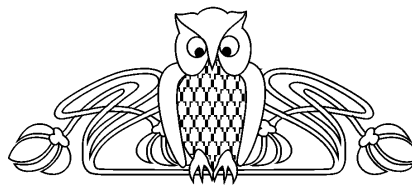


УДК 547.458:544.723

СОРБЦИОННЫЕ И БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОК ХИТОЗАНА

Д.А. Бузинова, А.Б. Шиповская

Саратовский государственный университет,
кафедра полимеров
E-mail: Buzinova@e-mail.ru



Исследованы сорбционные и бактерицидные свойства пленок хитозана разной влажности и полученных при различных температурах. Установлено, что пленочные образцы хитозана обнаруживают высокие транспортные свойства к парам воды и соляной кислоты, а также обладают бактерицидной активностью. Температура формирования пленок практически не влияет на их сорбционные свойства. С увеличением влажности пленок степень набухания, скорость сорбции и эффект бактерицидного действия увеличиваются. Клинические испытания пленочных образцов показали их высокую эффективность при заживлении ожоговых ран II – III А, Б степени.

Ключевые слова: аминополисахарид хитозан, пленки, режимы формирования, сорбционные свойства, бактерицидная активность.

Sorption and Bactericide Properties of Chitosan Films

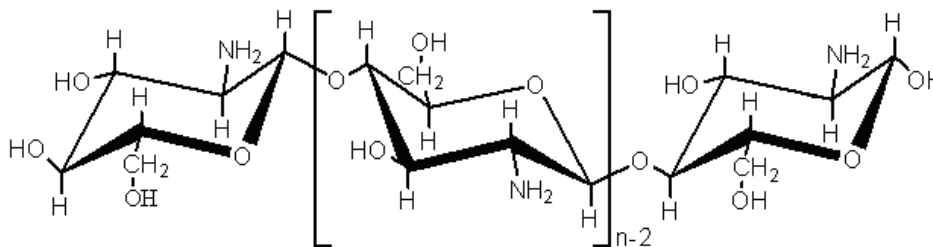
D.A. Buzinova, A.B. Shipovskaya

The sorption and bactericide properties of chitosan films with various humidity and preparation temperature were studied. Film chitosan samples have been found to possess high transport properties to water and hydrochloric acid vapors and to show bactericide activity. The temperature of film preparation practically does not influence the sorption properties. The swelling degree, sorption rate, and bactericide effect increase with the film's humidity. Clinical tests of our film samples have shown their high efficiency at burn treatment.

Key words: aminopolysaccharide chitosan, films, formation modes, sorption properties, bactericide activity.

Аминопполисахарид хитозан относится к классу гликозаминогликанов – гликополисахаридов соединительной ткани, входящих в состав внеклеточного матрикса. По своим биохимическим свойствам хитозан близок к функциональным качествам дермы *in vivo*. Он не токсичен, в процессе получения практически полностью утрачивает антигенность, обладает антитромбогенной способностью и усиливает процессы регенерации поврежденной ткани [1–3]. Все это позволяет рассматривать хитозан в качестве перспективного полимера для создания пленочных материалов для тканевой инженерии.

Основными факторами, определяющими использование биоматериалов при лечении поверхностных ран и ожогов, являются высокая проницаемость для паров воды, высокая сорбционная способность к раневому экссудату, прозрачность (т.е. возможность наблюдения за процессом регенерации кожного покрова) и способность защищать рану от патогенной микрофлоры [3]. Целью настоящей работы явилось исследование бактерицидных и сорбционных свойств пленок хитозана.



Структурная формула хитозана

Для получения пленок использовали хитозан (ХТЗ) со средневязкостной молекулярной массой $\overline{M}_\eta = 280$ кДа и степенью деацетилирования 80.8 мольн.% производства ЗАО

«Биопрогресс». Пленки получали в лабораторных условиях методом полива 2%-ных растворов ХТЗ в 2%-ной уксусной кислоте на полиэтиленовую подложку с последующим



испарением растворителя. Формование проводили при комнатной температуре ($T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$) и $T = 45^\circ\text{C}$ в течение 3–4 сут и 7–8 ч соответственно. Все полученные пленочные образцы были однородными и прозрачными. Толщина пленок составила 40 ± 2 мкм. Полимер в свежесформованных пленках находился в солевой форме. В исследованиях использовали образцы пленок с разной влажностью (W), которую определяли гравиметрически и выражали в мас.%. Характеристика пленочных образцов ХТЗ приведена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика пленок хитозана

Пленочный образец	Температура формования, $^\circ\text{C}$	Влажность, мас.%
1	22 ± 2	22.0
2		17.9
3		11.6
4	45	18.2
5		12.1

Сорбцию паров проводили согласно [4, 5]. В качестве сорбционной среды использовали дистиллированную воду и 0.5 Н раствор соляной кислоты (выбран в качестве среды, моделирующей раневой экссудат). Пленки ХТЗ выдерживали в парах сорбата в герметически закрытом сосуде (заполненном жидкостью на 1/25 часть) при $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$. Количество сорбированных паров определяли весовым методом, взвешивая исходную и набухшую пленку на аналитических весах. Процесс набухания характеризовали степенью сорбции паров (α , мас.%) и рассчитывали с учетом исходной влажности пленочного образца.

Бактерицидные свойства пленок изучали на примере грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов раневых инфекций: тест штаммов культур кишечной палочки *Escherichia coli* (ATCC 25922) и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Микроорганизмы высевали "газонным посевом" на плотную питательную среду АГВ. Пленку ХТЗ диаметром 4 мм помещали на засеянную газонем бактериальную культуру. Время экспозиции составляло 18 часов. Бактерицидную активность конт-

ролировали величиной диаметра зоны ингибирования (D , мм) засеянных газонем культур микроорганизмов в месте размещения испытуемого пленочного образца. В качестве образца сравнения использовали нитроцеллюлозную мембрану с порами диаметром 0.22 мкм, традиционно применяемую для получения стерильных препаратов биологических жидкостей.

На рис. 1 и 2 представлена кинетика сорбции паров воды и паровой среды, образованной 0.5 Н водным раствором соляной кислоты, пленками ХТЗ различной предыстории. Видно, что процесс сорбции не подчиняется закону Фика и описывается аномальными кривыми набухания. Образцы полимерных пленок в парах обоих сорбатов неограниченно набухают, и величина α не достигает равновесного значения. Воздушно-сухие пленки ХТЗ с влажностью $W \sim 18$ мас.% (см. табл. 1, образцы 2 и 4) после 24–48 ч нахождения в парах сорбционных сред приобретают консистенцию формоустойчивого эластичного геля, способного моделировать поверхность со сложным рельефом, а после 48–72 ч пребывания начинают растворяться. Пленки с $W \sim 12$ мас.% (образцы 3 и 5) могут присутствовать в парах сорбционных сред без растворения в течение 10 суток.

Наибольшее родство к пленкам ХТЗ имеют пары воды. Однако начальный этап (~ 2 ч) сорбирования паров воды и соляной кислоты для всех образцов практически одинаков (рис. 1 и 2). Различия в кинетике и степени сорбции начинают проявляться при более продолжительном выдерживании пленок в парах сорбата. Например, через 24 ч набухания степень поглощения паров воды пленочными образцами 2 и 4 с влажностью ~ 18 мас.% (см. табл. 1) составляет ~ 140 мас.% (рис. 1, кривая 2), а паров соляной кислоты – ~ 100 мас.% (рис. 2, кривая 2). Такая же тенденция наблюдается и для пленок с меньшим значением влажности: через 24 часа степень поглощения паров воды пленками 3 и 5 с $W \sim 12$ мас.% (см. табл. 1) составляет ~ 120 мас.% (рис. 1, кривая 1), паров соляной кислоты – ~ 80 мас.% (рис. 2, кривая 1).

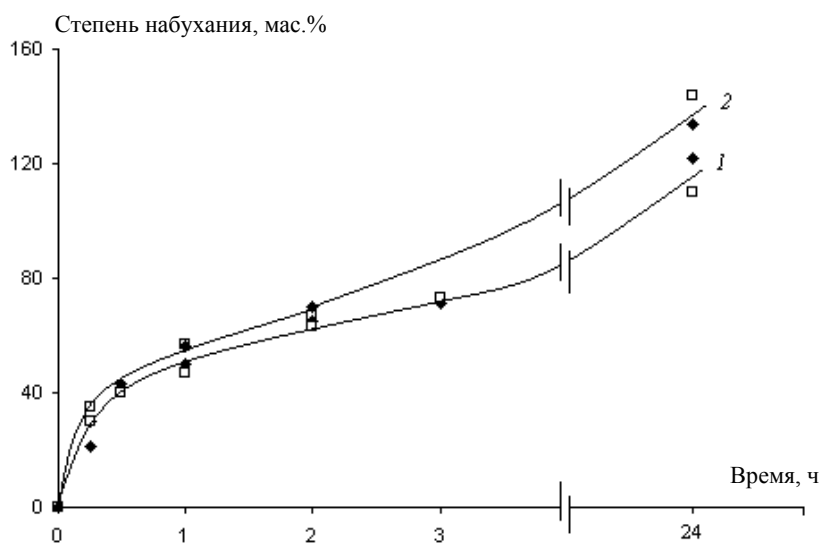


Рис. 1. Кинетика набухания пленок ХТЗ с влажностью ~ 12 (1) и ~ 18 мас.% (2) в парах воды при $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$; темные маркеры – данные для пленочных образцов 2 и 3, сформированных при $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$ (см. табл. 1), светлые – для образцов 4 и 5, полученных при $T = 45 \pm 2^\circ\text{C}$

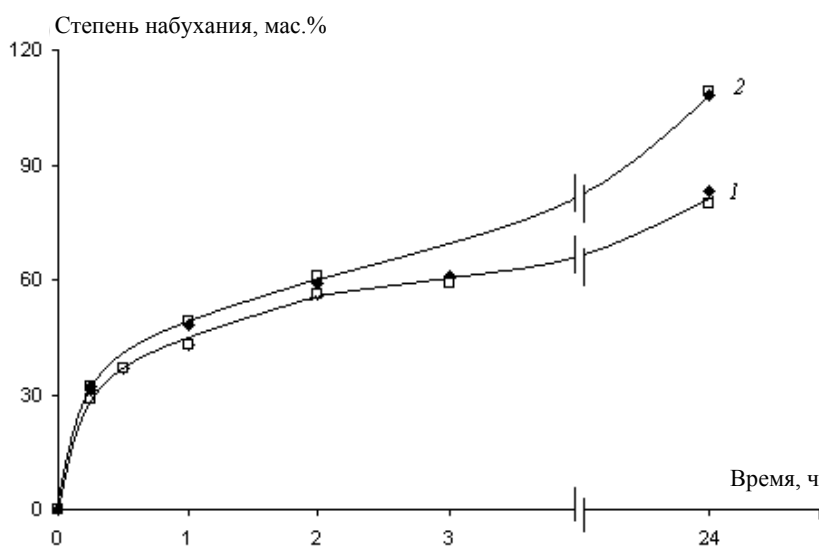


Рис. 2. Кинетика набухания пленок ХТЗ с влажностью ~ 12 (1) и ~ 18 мас.% (2) в парах среды, образованной 0.5 Н водным раствором соляной кислоты, при $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$; темные маркеры – данные для пленочных образцов 2 и 3, сформированных при $T = 22 \pm 2^\circ\text{C}$ (см. табл.1), светлые – для образцов 4 и 5, полученных при $T = 45 \pm 2^\circ\text{C}$

Следует отметить, что при набухании в парах обеих сорбционных сред образцы пленок ХТЗ визуально не изменяют своего фазового состояния и остаются прозрачными.

Температура формирования пленок (см. табл. 1) практически не влияет на их сорбционные свойства (рис. 1, 2). Небольшие различия фиксируются только при поглощении

пленками паров воды при продолжительности опыта более 24 ч (рис. 1). Следовательно, процесс получения пленок ХТЗ может быть осуществлен при более экономически обоснованных условиях (т.е. повышенных температурах) без ущерба для их сорбционных свойств.



Значительное влияние на параметры сорбционного процесса оказывает влажность пленочных образцов. Из представленных на рис. 1, 2 данных видно, что с увеличением влажности пленок степень набухания и скорость сорбции паров исследуемых модельных сред увеличиваются. Такая тенденция обнаружена ранее и для пленок ХТЗ другой молекулярной массы [6]. Снижение W пленок приводит, вероятно, к изменению в структурной организации полимерной матрицы и, как следствие, к снижению количества активных центров, участвующих в протекании сорбционного процесса. Тем не менее суммарное количество степени сорбции (для образцов любой влажности) всегда больше при использовании в качестве сорбата паров воды.

Исследование биологической активности пленок показало их бактерицидное действие на тест-штаммы культур кишечной палочки и золотистого стафилококка. Диаметр зоны ингибирования роста микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* в 5 и 3 раза соответственно превышает диаметр пленки ХТЗ, помещенной на бактериальную культуру (табл. 2, пленочный образец 1). Нитроцеллюлозная мембрана бактерицидный эффект практически не проявила.

Таблица 2

Бактерицидная активность пленок хитозана

Пленочный образец	Влажность, %	Диаметр зоны ингибирования, мм	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	22.0	12	20
3	11.6	5	7
Нитроцеллюлозная мембрана	—	2	2

Различия во влажности образцов и описанные выше различия в сорбционных свойствах пленок существенным образом отразились и на величине бактерицидного действия. Так, снижение W пленочных образцов снижает их бактерицидную активность, что выражается в существенном уменьшении диаметра зоны ингибирования роста бактериальных культур (табл. 2, пленочный образец 3).

Пленочные образцы ХТЗ были применены при лечении пациентов Саратовского

центра термических поражений. Этиологической причиной ожогов было воздействие горячих жидкостей и пламени. Исследования показали высокую эффективность пленок ХТЗ при заживлении ожоговых ран II–III А, Б степени по сравнению с традиционными методами лечения. Эффективность применения раневых покрытий оценивали по характеру течения раневого процесса, степени выраженности воспалительной реакции, срокам заживления ожогов II–III А степени и срокам подготовки ожогов III Б степени к аутодермопластике. Выявлена эпителизация ожогов II степени – на 8–9 сутки, III А степени – на 18–19 сутки. При ожогах III Б степени раны были подготовлены к аутодермопластике на 14–16 сутки. Ускорение процесса заживления происходило за счет уменьшения воспалительного процесса в ране, создания благоприятных условий для развития репаративных процессов и регенерации ожоговой раны, а также ускорения скорости формирования грануляционной ткани.

Таким образом, пленки ХТЗ обнаруживают высокие транспортные свойства к парам воды и соляной кислоты. Кроме того, они обладают бактерицидной активностью и ингибируют размножение раневых инфекций, что позволяет исключить дополнительное введение в пленку антибактериальных лекарственных средств. Клинические испытания позволяют рекомендовать применение ХТЗ для создания на его основе биотехнологических (т.е. содержащих в своем составе только биологически активные макромолекулы) пленочных раневых покрытий для комбустологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №06-08-00892а).

Выражаем благодарность профессору Саратовского государственного медицинского университета Н.В. Островскому и врачу ММУ «Городская больница №7» Р.Д. Бодун за проведение клинических испытаний пленок хитозана, научным сотрудникам ФГУЗ РосНИИПЧИ «Микроб» Е.С. Казаковой и И.А. Касьян за исследование бактерицидных свойств пленок хитозана.



Библиографический список

1. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М.: Наука, 2002. 368 с.
2. Шаповалов С.Г. Современные раневые покрытия в комбустиологии // ФАРМиндекс-Практик. 2005. Вып.8. С.38–46.
3. Кириленко Ю.К., Постнов С.Е., Решетов И.В. и др. Повязка для лечения ран: Пат. 2219954 Российская Федерация. МПК7 А61L15/28. 2003. 6 с.
4. Шиповская А.Б., Фомина В.И., Солонина Н.А., Тимофеева Г.Н. Влияние парообразной водно-кислотной среды на свойства хитозана // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: Материалы VIII Междунар. конф. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. С.157–160.
5. Шиповская А.Б., Фомина В.И., Солонина Н.А., Тимофеева Г.Н. Способ получения водорастворимых производных хитозана: Пат. 22636681 Российская Федерация. МПК⁷ C08B37/08. 2005. 5 с.
6. Бузинова Д.А., Фомина В.И., Шиповская А.Б. Исследование набухания хитозановых пленок в парах воды // Перспективные полимерные композиционные материалы. Альтернативные технологии. Переработка. Применение. Экология: Докл. IV Междунар. конф. «Композит-2007». Саратов: Изд-во Сарат. гос. техн. ун-та, 2007. С.58–61.