



Imię i nazwisko autora rozprawy: Paweł Szarlej Dyscyplina naukowa: Nauki chemiczne

# **ROZPRAWA DOKTORSKA**

Tytuł rozprawy w języku polskim: Polimerowe systemy uwalniania substancji aktywnych

Tytuł rozprawy w języku angielskim: Polymeric systems for active substance release

Promotor

podpis

Dr hab. inż. Justyna Kucińska – Lipka, Prof. uczelni

Gdańsk, rok 2024





# OŚWIADCZENIE

Autor rozprawy doktorskiej: Paweł Szarlej

Ja, niżej podpisany(a), oświadczam, iż jestem świadomy(a), że zgodnie z przepisem art. 27 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (t.j. Dz.U. z 2021 poz. 1062), uczelnia może korzystać z mojej rozprawy doktorskiej zatytułowanej: Polimerowe systemy uwalniania substancji aktywnych

do prowadzenia badań naukowych lub w celach dydaktycznych.<sup>1</sup>

Świadomy(a) odpowiedzialności karnej z tytułu naruszenia przepisów ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych i konsekwencji dyscyplinarnych określonych w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2021.478 t.j.), a także odpowiedzialności cywilno-prawnej oświadczam, że przedkładana rozprawa doktorska została napisana przeze mnie samodzielnie.

Oświadczam, że treść rozprawy opracowana została na podstawie wyników badań prowadzonych pod kierunkiem i w ścisłej współpracy z promotorem cpromotor>, drugim promotorem <drugi promotor>, promotorem pomocniczym cpromotor pomocniczy>, kopromotorem <kopromotor>\*.

Niniejsza rozprawa doktorska nie była wcześniej podstawą żadnej innej urzędowej procedury związanej z nadaniem stopnia doktora.

Wszystkie informacje umieszczone w ww. rozprawie uzyskane ze źródeł pisanych i elektronicznych, zostały udokumentowane w wykazie literatury odpowiednimi odnośnikami, zgodnie z przepisem art. 34 ustawy o prawie autorskim i prawach pokrewnych.

Potwierdzam zgodność niniejszej wersji pracy doktorskiej z załączoną wersją elektroniczną.

Gdańsk, dnia .....

podpis doktoranta

Ja, niżej podpisany(a), wyrażam zgodę/nie wyrażam zgody\* na umieszczenie ww. rozprawy doktorskiej w wersji elektronicznej w otwartym, cyfrowym repozytorium instytucjonalnym Politechniki Gdańskiej.

Gdańsk, dnia .....

podpis doktoranta

\*niepotrzebne usunąć

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Art. 27. 1. Instytucje oświatowe oraz podmioty, o których mowa w art. 7 ust. 1 pkt 1, 2 i 4–8 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, mogą na potrzeby zilustrowania treści przekazywanych w celach dydaktycznych lub w celu prowadzenia działalności naukowej korzystać z rozpowszechnionych utworów w oryginale i w tłumaczeniu oraz zwielokrotniać w tym celu rozpowszechnione drobne utwory lub fragmenty większych utworów. 2. W przypadku publicznego udostępniania utworów w taki sposób, aby każdy mógł mieć do nich dostęp w miejscu i czasie przez siebie wybranym korzystanie, o którym mowa w ust. 1, jest dozwolone wyłącznie dla ograniczonego kręgu osób uczących się, nauczających lub prowadzących badania naukowe, zidentyfikowanych przez podmioty wymienione w ust. 1.



# **OPIS ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

Autor rozprawy doktorskiej: Paweł Szarlej

Tytuł rozprawy doktorskiej w języku polskim: Polimerowe systemy uwalniania substancji aktywnych

Tytuł rozprawy w języku angielskim: Polymeric systems for active substance release

Język rozprawy doktorskiej: Polski

Promotor rozprawy doktorskiej: Justyna Kucińska - Lipka

Data obrony:

Słowa kluczowe rozprawy doktorskiej w języku polskim: systemy uwalniania substancji aktywnych, warstwy absorpcyjne opatrunków, opatrunki kompozytowe, chlorowodorek cyprofloksacyny, siarczan amikacyny

Slowa kluczowe rozprawy doktorskiej w języku angielskim: drug delivery systems, absorption layers of wound dressing, composite dressings ciprofloxacin chloride, amikacin sulphate

Streszczenie rozprawy w języku polskim: Przedstawiana praca doktorska dotyczy polimerowych systemów uwalniania substancji aktywnych, ze zwróceniem szczególnej uwagi na zaprojektowanie, otrzymanie i charakterystykę nowatorskich kompozytowych opatrunków uwalniających substancje aktywne. W części literaturowej pracy doktorskiej skupiono się na wykonaniu przeglądu rodzajów opatrunków używanych obecnie w regeneracji tkanki skórnej pod kątem ich właściwości, pełnionych przez nie funkcji, typu wykorzystywanych do ich wytwarzania materiałów, a także stale rosnącego poziomu ich złożoności wynikającego z ciągłego dażenia do uniwersalizacji zastosowań opatrunków. W części eksperymentalnej zaprojektowano i otrzymano hybrydowe warstwy absorpcyjne, a także dokonano ich charakterystyki pod kątem oceny ich właściwości mechanicznych, strykturalnych, chemicznych, absorpcyjnych, zdolności do uwalniania substancji antybakteryjnego. farmaceutycznych, а także działania Otrzymane opatrunki kompozytowe z wybranymi warstwami absorpcyjnymi poddano ocenie ich oddziaływania wobec komórek ludzkich, czym potwierdzono ich ogólne bezpieczeństwo.

**Streszczenie rozprawy w języku angielskim**: The presented doctoral thesis concerns polymer systems for releasing active substances, with particular attention paid to the design, preparation and characterization of innovative composite dressings releasing active substances. The literature part of the doctoral thesis focused on reviewing the types of dressings currently used in the regeneration of skin tissue in terms of their properties, functions, the type of materials used to produce them, as well as the constantly increasing level of their complexity resulting from the constant pursuit of universalization of the



applications of dressings. In the experimental part, hybrid absorption layers were designed and obtained, and they were characterized in terms of assessing their mechanical, structural, chemical, absorption properties, ability to release pharmaceutical substances, and antibacterial activity. The obtained composite dressings with selected absorbent layers were assessed for their impact on human cells, which confirmed their overall safety.

Streszczenie rozprawy w języku, w którym została napisana\*\*:

Słowa kluczowe rozprawy doktorskiej w języku, w którym została napisana\*\*:

\* niepotrzebne skreślić

\*\* dotyczy rozpraw doktorskich napisanych w innych językach, niż polski lub angielski





# PODZIĘKOWANIA

Chciałbym serdecznie podziękować Pani dr hab. inż. Justynie Kucińskiej – Lipce za wiele lat owocnej współpracy, poświęcony czas i cierpliwość w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej.

Chciałbym również serdecznie podziękować Pani prof. dr hab. inż. Helenie Janik za ogromny i nieoceniony wkład oraz wysiłek poświęcony przy pomocy w przygotowaniu rozprawy doktorskiej.

Dziękuję również wszystkim pracownikom Katedry Technologii Polimerów, a w szczególnośvci moim koleżankom i kolegom z Zespołu Laboratorium 107 za atmosferę sprzyjającą współpracy i wiele cennych rad.









# SPIS TREŚCI

| Wykaz ważniejszych skrótów i oznaczeń                                      | 9  |
|--|----|
| Wstęp  | 13 |
| Część literaturowa   | 15 |
| 1. Ogólna charakterystyka, właściwości i rodzaje opatrunków na rany        | 15 |
| 1.1. Rodzaje ran i proces gojenia  | 15 |
| 1.2. Optymalne właściwości opatrunków                                      | 18 |
| 1.3. Rodzaje opatrunków  | 20 |
| Opatrunki piankowe   | 22 |
| Opatrunki hydrożelowe  | 23 |
| Opatrunki hydroprzewodzące (kompozytowe)                                   |    |
| Opatrunki bioaktywne   |    |
| Opatrunki zawierające substancje farmaceutyczne                            |    |
| Dostępne handlowo opatrunki tradycyjne                                     | 31 |
| 1.4. Badania właściwości fizykochemicznych i mikrobiologicznych opatrunków | 51 |
| 1.5. Technologia druku przestrzennego i jej zastosowania w medycynie       | 55 |
| Część eksperymentalna  | 60 |
| 2. Cel i zakres pracy  | 60 |
| 3. Sposób otrzymania hybrydowych warstw absorpcyjnych opatrunku            | 65 |
| 3.1. Warstwa absorpcyjna typu A  | 65 |
| 3.2. Warstwa absorpcyjna typu B  | 69 |
| 4. Metodyka badań  | 76 |
| 4.1. Warstwa absorpcyjna typu A  | 76 |
| 4.2. Warstwa absorpcyjna typu B  | 80 |
| 5. Wyniki badań  | 96 |
| 5.1. Warstwa absorpcyjna typu A  | 96 |





| 5.2. Warstwa absorpcyjna typu B |     |
|---------------------------------|-----|
| 6. Podsumowanie wyników badań   |     |
| 7. Wnioski                      |     |
| Literatura                      | 171 |
| Wykaz rysunków                  |     |
| Wykaz tabel                     |     |
| Wykaz dorobku naukowego         |     |





# WYKAZ WAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW I OZNACZEŃ

- AM technologie addytywne
- AMI siarczan (VI) amikacyny
- ASCs komórki macierzyste tkanki tłuszczowej
- BAC kopolimer chityny octowo masłowej
- BOR tetraboran sodu
- CAD projektowanie wspomagane komputerowo
- Cipro chlorowodorek cyprofloksacyny
- CLHs hydrożele typu A zmodyfikowane cyprofloksacyną
- CPMs kompozytowe matryce porowate
- CR uwalnianie skumulowane
- CS-chitozan
- DDSs sysytemy uwalniania leków
- DMSO-dimetylosulfotlenek
- DNF dyfuzja nie Fickowska
- d<sub>p</sub>- gęstość hydrożelu w stanie uwodnionym
- d<sub>p</sub> gęstość uwodnionego hydrożelu
- DQF dyfuzja quasi Ficka
- d<sub>s</sub> gęstość rozpuszczalnika
- E moduł Younga
- EC-etyloceluloza
- ECM macierz zewnątrzkomórkowa
- EDX spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii
- ELSD detekcja rozproszenia światrła laserowego
- EVA-octan etylenowinylu
- FDM warstwowe osadzanie stapianego materiału
- F-HALs hybrydowe warstwy absorpcyjne uwalniające cyprofloksacynę
- FTIR spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fourier' a
- H zawartość wody wolnej
- HA-hydroksyapatyt
- HME wytłaczanie na gorąco
- HPC hydroksypropyloceluloza





- HPLC wysokosprawna chromatografia cieczowa
- IPLC chromatografia tworzenia par jonowych
- K stała kinetyczna procesu pęcznienia hydrożelu
- K1 stała kinetyki pęcznienia pierwszego rzędu
- K2 stała kinetyki pęcznienia drugiego rzędu
- K<sub>K</sub> stała kinetyki pęcznienia modelu Korsmeyera Peppasa
- LAA kwas L askorbinowy
- LB pożywka Luria Bertani
- m<sub>0</sub> masa początkowa
- m0- masa początkowa uwodnionego hydrożelu
- m0-masa suchego hydrożelu przed badaniem
- m<sub>1</sub>-masa wysuszonego hydrożelu
- M<sub>a</sub> masa uwodnionego hydrożelu
- $M_b-masa$  suchego hydrożelu
- M<sub>c</sub>- średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci
- MeOH metanol
- m<sub>i</sub> masa po degradacji
- MJ natryskiwanie materiału w postaci kropel
- MMC celuloza mikrokrystaliczna
- m<sub>t</sub> masa spęczniałego hydrożelu w czasie (t)

n – parametr dyfuzyjny

- NFPA-kwas nonafluoropentanowy
- P porowatość
- PAA-poliakryloamid
- PBS sól fizjologiczna buforowana fosforanami
- $PCL poli(\epsilon$ -kaprolakton)
- PEG glikol polietylenowy
- pHEMA poli(metakrylan 2-hydroksyetylu)
- PLA polilaktyd
- PUR poliuretan
- PVA poli(alkohol winylowy)
- PVP poli(winylopirolidon)





- q<sub>c</sub> gęstość usieciowania
- SC/PL odlewanie z roztworu z wymywaniem porogenu
- SEM skaningowa mikroskopia elektronowa
- SLA stereolitografia
- SLS selektywne spiekanie laserowe

t – czas

- TCP fosforan triwapniowy
- TE inżynieria tkankowa
- TEC cytrynian trietylu
- TIPS termicznie indukowana separacja faz
- TPU termoplastyczny poliuretan
- T<sub>SB</sub>- wytrzymałośc na rozciąganie
- UnMHs hydrożele typu A niezmodyfikowane cyprofloksacyną
- V objętość etanolu
- V<sub>2,s</sub>- objętościowa frakcja polimeru w hydrożelu
- V<sub>s</sub>-molowa frakcja wody
- W pęcznienie
- W pęcznienie w czasie (t)
- W<sub>eq</sub> pęcznienie równowagowe
- ZOI strefa zahamowania wzrostu
- $\Delta H_m$  entalpia topnienia
- $\Delta M$  ubytek masy
- ε-wydłużenie przy zerwaniu
- $\varepsilon_p$  wydłużenie trwałe
- $\tilde{\upsilon}$  objętość właściwa hydrożelu w stanie uwodnionym
- $\chi$  parametr oddziaływania rozpuszczalnika z siecią polimerową









## WSTĘP

Tematyka prezentowanej pracy doktorskiej dotyczy polimerowych systemów uwalniania substancji aktywnych (DDSs, ang. *Drug delivery systems*), ze szczególnym ukierunkowaniem na zaprojektowanie, otrzymanie i charakterystykę nowatorskich kompozytowych opatrunków uwalniających substancje aktywne.

Mianem DDSs określa się szereg rozwiązań ukierunkowanego i kontrolowanego uwalniania leków poprzez modyfikację ich właściwości farmakokinetycznych oraz farmakodynamicznych [1]. Warto dodać, że dzięki temu systemy kontrolowanego uwalniania dają możliwość doboru optymalnej szybkości, kinetyki oraz miejsca docelowego uwalniania substancji aktywnej, co stanowi dużą zaletę w porównaniu do konwencjonalnych form podawania leku [2]. Odpowiednia metoda produkcji systemów uwalniania pozwala na uzyskanie leków o przedłużonym, opóźnionym, pulsacyjnym bądź przyspieszonym uwalnianiu. Głównym celem stosowania leków o zmodyfikowanym uwalnianiu jest uzyskanie korzyści terapeutycznych, niemożliwych do osiągnięcia przy zastosowaniu konwencjonalnej postaci leku, m.n. utrzymywanie stałego stężenia substancji aktywnej w krwi czy dostarczenie jej do konkretnego miejsca [3].

Wartość współczesnego rynku opatrunków w skali światowej w 2023 roku oszacowano na ok. 19,4 mld \$, z czego ok. 7 mld \$ stanowi rynek opatrunków tradycyjnych, a około 8 mld \$ rynek opatrunków zaawansowanych [4]. Tylko ok. 1,2 mln \$ stanowi wartość rynku opatrunków aktywnych (0,01 % wartości całego rynku opatrunków). Pomimo tak ogromnego rozmiaru rynku opatrunków i nadzwyczajnej różnorodności dostępnych handlowo produktów, rynek ten stale się rozwija. Podstawowym czynnikiem napędzającym rozwój jest cel otrzymania opatrunku "idealnego", który łączy w sobie różne funkcje takie jak: utrzymywanie wilgotnego środowiska gojenia się rany, usuwanie wysięku z rany, łatwa aplikacja i bezpolesna wymiana, wypełnianie rany w sposób uniemożliwiający uszkodzenie tkanek otaczających uraz, umożliwienie wymiany gazów między raną a środowiskiem, oraz ochrona przed bakteriami [5]. Wielofunkcyjność opatrunków jest stosunkowo nowym podejściem, zapoczątkowanym w latach 80 XX w., kiedy zmieniła się koncepcja dotycząca środowiska gojenia się rany. Zaczęto odchodzić od opatrunków starego typu





jak np. gazy, które osuszały łożysko rany na rzecz nowocześniejszych rozwiązań zapewniających wilgotne środowisko gojenia i pochłanianie wysięku (hydrokoloidy, pianki poliuretanowe, alginiany, hydrożele) [6].

Do najpopularniejszych polimerowych DDSs należ.in.in. nanocząstki, micele, liposomy czy hydrożele [7]. Ponadto DDSs wykazują także wysoki potencjał do zastosowań w inżynierii tkankowej (TE, ang. *Tissue Engineering*). Do najbardziej znanych systemów tego typu należą m. in. rusztowania tkankowe [8], a także różnego typu opatrunki polimerowe, stosowane w celu regeneracji uszkodzonej tkanki skórnej [9]. Tym ostatnim w znacznej części poświęcona jest przedstawiana praca doktorska.





# CZĘŚĆ LITERATUROWA

# 1. Ogólna charakterystyka, właściwości i rodzaje opatrunków na rany

### 1.1. Rodzaje ran i proces gojenia

We współczesnej medycynie opatrunki stanowią nieodzowny element terapii leczenia ran tkanki skórnej, która jest jednym z największych narządów w organizmie człowieka i stanowi około 10% masy ciała. Działa jako bariera chroniąca przed utratą płynów ważnych dla utrzymania homeostazy organizmu, a także stanowi osłonę przed urazami mechanicznymi i termicznymi. Ponadto skóra izoluje głębiej położone tkanki i narządy od szkodliwych czynników zewnętrznych, takich jak substancje chemiczne, patogeny biologiczne i promieniowanie UV [10]. Ze względu na swoje funkcje skóra narażona jest na różnego rodzaju uszkodzenia prowadzące do powstawania ran. Czasem nawet rozległe uszkodzenia skóry mogą zagrażać życiu. Rany oparzeniowe są doskonałym przykładem bardzo groźnych i szczególnie trudnych do leczenia urazów skóry [11].

Wybór odpowiedniego opatrunku zależy więc głównie od rodzaju rany, fazy gojenia się rany, a także jego funkcji (wchłanianie wysięku, nawilżenie rany, funkcja okluzyjna czy działanie przeciwbakteryjne) [6], [12]. Istnieje kilka podstawowych typów ran, które wymagają nieco innego leczenia przy użyciu najbardziej odpowiedniego opatrunku. Pierwszy typ stanowi rany martwicze, które często wiążą się z usunięciem zakażonego fragmentu tkanki skórnej. Kolejne rodzaje ran to rany ziarninujące, odleżyny oraz rany zainfekowane. Infekcje najczęściej powodowane są przez bakterie i prowadzą do zwiększonej objętości wysięku oraz przedłużającego się stanu zapalnego tkanki, co znacznie opóźnia regenerację rany [13], [14]. Warto także zaznaczyć, że stworzenie jednego, uniwersalnego modelu opatrunku obejmującego swoim działaniem różnego typu uszkodzenia tkanki skórnej jest niemalże niemożliwe. Wynika to z różnorodności ran, a co za tym idzie, również zróżnicowanych warunków gojenia.

Według innej klasyfikacji ran odnoszącej się do czynników powodujących uszkodzenia tkanki skórnej [15] można je podzielić na:





- a) Rany przewlekłe, które są spowodowane problemami metabolicznymi. Leczenie tego typu ran jest znacznie bardziej czasochłonne niż ran ostrych, ponieważ charakteryzują się one zaburzoną równowaga pomiędzy procesem produkcji i degradacji komórek oraz matrycy zewnątrzkomórkowej (ECM, ang. *Extra cellular matrix*). Należą do nich owrzodzenia żylne i naczyniowe, wrzody cukrzycowe, odleżyny oraz rany niedokrwienne [15], [16].
- b) Rany ostre, które są natomiast związane z urazem powstałym wskutek działania czynników środowiskowych. W przeciwieństwie do ran przewlekłych wykazują normalną równowagę pomiędzy produkcją i degradacją komórek oraz ECM, co pozwala na ich szybsze i naturalne leczenie [15]. Do ran ostrych zaliczają się: zadrapania i otarcia, zwichnięcia lub stłuczenia, rany cięte, skaleczenia, rany postrzałowe oraz rany popromienne [15].

Zwykle ludzka skóra charakteryzuje się dużą zdolnością do regeneracji po urazach poprzez następujące po sobie procesy fizjologiczne, takie jak: krwawienie, stan zapalny, proliferacja i przebudowa [17]–[19] (**Rys. 1.1.**). Zazwyczaj pozwalają one na całkowitą regenerację niewielkich ran.







#### Rys. 1.1. Etapy gojenia się rany [20]

Podczas pierwszego etapu regeneracji tkanki skórnej następuje krwawienie z rany. Następnie po zahamowaniu krwawienia wydobywa się wydzielina surowiczowłóknikowa ulegająca krzepnieciu. Faza oczyszczania następuje 24-48 godziny po powstaniu rany i polega na usunięciu zanieczyszczeń i tkanek martwiczych oraz zapewnieniu ranie odpowiednich warunków środowiskowych. Zazwyczaj faza hemostazy przebiega jednocześnie ze stanem zapalnym bezpośrednio po zranieniu, przy czym stan zapalny może utrzymywać się nawet do 6 dni [18], [19], [21]. W trakcie hemostazy i krzepnięcia największą rolę odgrywają płytki krwi (trombocyty), które uwalniaja substancje powodujace krzepniecie. Faza proliferacyjna rozpoczyna się kilka dni po utworzeniu rany i trwa od 4 do 42 dni. Polega na wytwarzaniu nowych naczyń krwionośnych. Jednocześnie tkanka ziarninowa zaczyna się rozrastać od brzegów rany, dzięki czemu ubytek jest stopniowo wypełniany. Podczas procesu ziarnina pokryta jest warstwa płynu surowiczo- włóknikowego i leukocytów, co stanowi bariere przed wtórnym zakażeniem. Czas trwania fazy proliferacyjnej oraz jej przebieg zależy również od zaopatrzenia rany w substancje odżywcze i tlen. W ostatniej fazie, trwającej od 6 tyg. do 9 miesięcy, dochodzi do uporządkowania włókien kolagenowych co skutkuje obkurczaniem się i zmniejszaniem powierzchni rany, która zostaje pokryta cienka warstwa nabłonka. Proces gojenia kończy się w momencie gdy na blizne narasta naskórek z sasiadującej z raną tkanki skórnej [18], [19], [21]–[23]

Proces gojenia się dużych oparzeń i ran przewlekłych jest niestety znacznie trudniejszy i bardziej czasochłonny. Rany przewlekłe są często definiowane jako rany, które nie są w stanie samoistnie zregenerować się w ciągu 90 dni [9]. Ich proces gojenia jest nadal sporym wyzwaniem terapeutycznym. Rany te mogą być spowodowane wieloma czynnikami, w tym zakażeniem bakteriami lub patogenami opornymi na antybiotyki, a także upośledzeniem funkcjonowania układu odpornościowego [24]. Ponadto leczenie ran przewlekłych może być skomplikowane przez wpływ tzw. czynników miejscowych (powierzchnia i głębokość rany, występowanie ciała obcego, obecność naturalnych dla organizmu procesów utleniania) i ogólnoustrojowych (płeć i wiek pacjenta, stężenie hormony płciowe, choroby współistniejące, cukrzyca i używki takie jak papierosy czy alkohol) [24], [25].





Regeneracja ran przewlekłych może być wspomagana przez wiele rodzajów opatrunków na rany i rusztowań tkankowych, które można sklasyfikować jako systemy uwalniania leków. Głównym zadaniem polimerowych systemów uwalniania leków (DDSs, ang. *Drug delivery systems*) jest dostarczenie odpowiedniej dawki substancji czynnej w odpowiednim czasie w określone miejsce, bez wywoływania przy tym niepożądanych skutków ubocznych [2], [9]. Ponadto systemy o kontrolowanym uwalnianiu poprawiają skuteczność farmakoterapii poprzez modyfikację zdolności leków do przekraczania bariery biologicznej, zmianę biodystrybucji i poprawę stabilności substancji aktywnej w warunkach fizjologicznych, a także utrzymują stężeniu substancji aktywnej w bezpiecznym zakresie terapeutycznym [2], [3], [26] (**Rys. 1.2**). Przykładem opatrunku uwalniającego substancje aktywne dostępnego handlowo jest np. piankowy opatrunek Mepilex Ag ® działający antybakteryjnie poprzez uwalnianie w miejscy rany siarczanu srebra [27].



**Rys. 1.2.** Zależność stężenia substancji aktywnej od czasu dla kontrolowanego, pulsacyjnego i natychmiastowego uwalniania [3]

#### 1.2. Optymalne właściwości opatrunków

Materiały najczęściej stosowane w leczeniu ran wykazują właściwości lecznicze zgodne z koncepcją TIME (ang. *Tissue, Infection, Moisture, Edge*), co oznacza, że zapewniają wilgotne środowisko gojenia, umożliwiają wymianę gazową, ochronę





przed zakażeniem bakteryjnym, chronia brzegi rany i pomagają kontrolować infekcje [28]. Ponadto nowoczesne opatrunki powinny wykazywać właściwości oczyszczające oraz promujące zabliźnianie się rany, zwiększając migrację leukocytów do rany i zwiększając agregację enzymów odpowiedzialnych za krzepniecie krwi (np. reptylazy bedacej enzymem trombinopodobnym). Ze wzgledu na nadmiar krwi i wysieku, które mogą blokować aktywność biologiczną i proliferację komórek w ranach przewlekłych, pożądaną funkcją nowoczesnych opatrunków jest również wysoka zdolność chłonna [14]. W pełni funkcjonalny opatrunek aktywny powinien wykazywać również właściwości hipoalergiczne, wysoka biokompatybilność, a także być łatwy do usunięcia i wymiany, przy czym wymiana nie powinna wymagać zmian częstszych niż w przypadku opatrunków tradycyjnych jak np. gaza czy bandaż. Często dodatkowym atutem tego typu opatrunków jest ich przezroczystość, która pozwala na kontrolę stanu rany bez konieczności ich ściągania [29] (Rys. 1.3). Opatrunki aktywne zawierają także różnego typu dodatki o działaniu farmaceutycznym, np. żywe komórki, antybiotyki, chemioterapeutyki, związki o działaniu regeneracyjnym oraz czynniki wzrostu komórek. Niekiedy jako czynniki aktywne stosowane są również antyutleniacze oraz substancje tamujące krwawienie [30].



**Rys. 1.3.** Przykład przezroczystego komercyjnego opatrunku OptiView Transparent Dressing ® [31]





# 1.3. Rodzaje opatrunków

Dla różnych rodzajów ran i etapów gojenia produkowane są odmienne i specjalnie zaprojektowane materiały na bazie hydrożeli [32], włókien poliuretanowych [33] lub pianek [34], alginianów [35], kolagenów [36], hydrowłóknien [37] czy hydrokoloidów [38], [39].

Przez wiele lat rozwoju i poszukiwań nowych metod leczenia ran w dostępnej literaturze wykrystalizowało się kilka sposobów klasyfikacji opatrunków. Podziału opatrunków można dokonać m. in. biorąc pod uwagę pełnione przez nie funkcje. W tym przypadku dzielą się one następująco:

- a) opatrunki chłonne (hydrowłókna, opatrunki piankowe oraz alginiany),
- b) opatrunki absorpcyjne i zatrzymujące wysięk (hydrokoloidy, dekstranomery),
- c) opatrunki dostarczające wodę (głównie hydrożele) [30], [40].

Z punktu widzenia chronologicznego [6], [40] opatrunki można sklasyfikować jako:

- a) Opatrunki I generacji, które pojawiły się na rynku w latach 60 XX w. Ich wadą jest nieprzepuszczalność dla wilgoci, co istotnie utrudnia proces gojenia się ran. Należą do nich m. in. folie polietylenowe, poliestrowe czy polipropylenowe.
- b) Opatrunki II generacji, powstałe w następstwie problemów wynikających ze stosowania opatrunków typu nieprzepuszczalnych folii. Opatrunki drugiej generacji zapewniały już przepuszczalność wilgoci, jednakże w dalszym ciągu nie wykazywały działania farmaceutycznego i często przyklejały się do nowo tworzącej się tkanki na powierzchni rany. Do przykładów tego typu opatrunków należą opatrunki wykonane z poliuretanu, karboksymetylocelulozy czy poliizobutylenu, które są nazywane inaczej hydrokoloidami.
- c) Opatrunki III generacji, stanowiące najnowocześniejsze rozwiązanie w dziedzinie leczenia ran. Zapewniają one zarówno wilgotne środowisko gojenia, wymianę gazów, oczyszczanie rany i bezbolesną wymianę. Do trzeciej generacji opatrunków należą np. chłonne filmy poliuretanowe czy hydrożele.

Ostatnią i jedną z najczęściej spotykanych metod klasyfikacji opatrunków jest podział na opatrunki tradycyjne, hydroprzewodzące (kompozytowe), bioaktywne oraz uwalniające substancje farmaceutyczne [5], [41].





# Opatrunki tradycyjne

**Tabela 1.1** przedstawia podział opatrunków tradycyjnych ze względu na typ oddziaływania z raną według Negut'a i współpracowników [19]. Opatrunki pasywne nie oddziaływują z raną, a jedynie chronią przed dalszymi urazami mechanicznymi. Z kolei opatrunki interaktywne zapewniają wymianę gazów między raną a otoczeniem, a opatrunki aktywne oddziałują z środowiskiem gojenia się rany, np. poprzez zapewnienie wilgotnego środowiska czy zdolność do pochłaniania wysięku.

| Тур          | Forma                           | Opis  | Produkty                                     | Lit.          |
|--------------|---------------------------------|---|--|---------------|
| opatrunku    | użytkowa                        |   | handlowe                                     |               |
| Decumy       | Gaza                            | Gaza jest produkowana pod postacią bandaży, gąbek czy<br>rękawów opatrunkowych. Nadają się do niewielkich<br>ran, ponieważ mogą przyklejać się do rany i zakłócać jej<br>łożysko po usunięciu.  | Xeroform,<br>Multisorb                       | [43],<br>[44] |
| Fasywny      | Gaza tiulowa                    | Gazy maziste składające się z gazy tiulowej<br>i wazeliny. Opatrunki te nadają się do płaskich<br>i płytkich ran z minimalnym wysiękiem. Nie przykleja<br>się do jej powierzchni.   | Vaseline<br>Gause                            | [44],<br>[45] |
|              | Folie<br>półprzepuszcz<br>alne  | Półprzepuszczalne membrany poliuretanowe ze spoiwem<br>akrylowym. Są przezroczyste, by umożliwić kontrolę<br>stanu rany. Przydatne w leczeniu płytkich ran o niskim<br>wysięku.   | Biooclusive,<br>Tegaderm                     | [46]          |
| Interaktywny | Pianki<br>półprzepuszcz<br>alne | Miękkie, hydrofilowe pianki poliuretanowe<br>o otwartych komórkach o grubości 6–8 mm. Opatrunek<br>przeznaczony jest do wchłaniania dużych ilości<br>wysięków. Nie stosuje się go do ran o niskim wysięku,<br>ponieważ ma działanie wysuszające. Przeznaczone na<br>oparzenia, przeszczepy skóry oraz odleżyny, które nie są<br>objęte zakażeniem.  | Allevyn,<br>Lyofoam                          | [34]          |
|              | Hydrożele                       | Przeznaczone są do zaopatrywania ran trudno gojących<br>(m.in. odleżyny, zgorzel cukrzycowa) znajdujących się w<br>fazie ziarninowania i epitelizacji. Polecane są również w<br>przypadkach oparzeń drugiego stopnia, ran<br>pooperacyjnych oraz do pokrywania miejsc pobrania<br>przeszczepów w praktyce transplantacji skóry.   | Granugel,<br>Vigilion,<br>Aquagel,<br>Nu-Gel | [29],<br>[32] |
| Aktywny      | Hydrokoloidy                    | Są to półprzepuszczalne folie poliuretanowe w postaci<br>stałych płytek. Zawierają hydroaktywne cząstki, takie jak<br>karboksymetyloceluloza sodowa, która pęcznieje z<br>wysiękiem lub tworzy z nim żel.<br>W zależności od typu wybranego opatrunku<br>hydrokoloidowego można je stosować w ranach o<br>lekkim bądź ciężkim wysięku,a także w przypadku<br>złuszczania lub granulacji rany. | Granuflex,<br>Tegasorb                       | [39]          |
|              | Alginiany                       | Alginian wapnia, który składa się z chłonnej włóknistej<br>wełny z solami sodowymi i wapniowymi kwasu   | Kaltostat,<br>Algisite,                      | [47]          |

**Tabela 1.1.** Rodzaje opatrunków tradycyjnych [19], [42]





| Aktywny |             | alginowego (stosunek 80:20). Alginany używane są w<br>przypadku ranwysiękowych i pomagają w oczyszczaniu<br>złuszczającej się rany. Nie są stosowane w przypadku<br>ran o niskim wysięku, ponieważ powodują wtedy<br>dodatkowe osuszanie rany. Opatrunki te należy zmieniać<br>codziennie. | SeaSorb                     |               |
|---------|-------------|--|-----------------------------|---------------|
|         | Kolageny    | Są to opatrunki, które występują w formie kłębków,<br>żelów i cząstek. Sprzyjają odkładaniu się<br>nowopowstałego kolagenu w łożysku rany. Pochłaniają<br>wysięk i zapewniają wilgotne środowisko.   | Puracol<br>Plus,<br>BIOSTEP | [36],<br>[37] |
|         | Hydrowłókna | Hydrowłókna to miękkie włókniniowe opatrunki lub<br>wstążki wykonane z włókien karboksy-metylocelulozy<br>sodowej. Wchłaniają wysięk i zapewniają wilgotne<br>środowisko w przypadku głębokich i zanieczyszczonych<br>ran wymagających osłonięcia.   | Aquacel,<br>Versiva         | [44]          |

#### **Opatrunki piankowe**

Pianki stanowią jeden z rodzajów opatrunków tradycyjnych. Można je rozpatrywać jako dyspersję gazu wewnątrz stałej matrycy, co czyni je bardzo użytecznymi pod kątem wykorzystania jako opatrunki zdolne do kontrolowanego dostarczania leków. W szczególności gąbki alginianowe i chitozanowe charakteryzują się niską toksycznością i zdolnością do regeneracji tkanek takich jak chrząstki i nerwy. Pianki kompozytowe na bazie chitozanu są obecnie uważane za cenną alternatywę w leczeniu ran, zwłaszcza gdy są aktywowane związkami antybakteryjnymi [48]–[50].

Pianki można wytwarzać stosując termicznie indukowaną separację faz (TIPS, ang. *Thermal induced phase separation*). W technologii tej środek spieniający stanowi niskowrząca ciecz organiczna, która rozpuszcza się w polimerze i podczas ogrzewania powoduje rozdzielenie faz. Następnie następuje zarodkowanie i wzrost komórek. Proces spieniania prowadzony za pomocą technologii TIPS charakteryzuje się dwoma głównymi etapami: w pierwszym następuje wstępne spienianie granulek polimerowych zawierających środek porotwórczy poprzez ogrzewanie parą w przepływie fluidalnym. Następnie wstępnie spienione granulki umieszcza się w formie, ponownie poddaje działaniu pary w celu ekspandowania. Podczas drugiego etapu granulki polimerowe spiekają się z sobą i przyjmują ten sam kształt formy, w którą zostały włożone. Za pomocą tego taniego procesu można uzyskać dowolny złożony kształt przy pomocy





odpowiedniej formy lub można wyciąć pożądane kształty z bloków, zgodnie z konkretnymi zastosowaniami [49], [51].

Ten konwencjonalny proces, którego akronim to TIPS, można również przeprowadzić przy użyciu rozpuszczalnika organicznego, w którym polimer można rozpuścić w wysokich temperaturach. W drugim etapie przeprowadza się etap hartowania, uzyskując ponowne rozdzielenie faz. Jednakże usunięcie rozpuszczalnika stanowi jedno z wyzwań stojących przed tymi technikami [49], [51].

Inną możliwością wytwarzania pianek jest odlewanie z roztworu z wymywaniem porogenu (SC/PL, ang. *Solvent casting / particulate leaching*) [52]. Technika polega na rozpuszczeniu polimeru w wysoce lotnym rozpuszczalniku, uzyskując roztwór w formie wypełnionej stałym porogenem, którym jest zwykle sól rozpuszczalna w wodzie, taka jak chlorek sodu lub chlorek potasu. Po odparowaniu rozpuszczalnika sól można wypłukać, pozostawiając wysoce porowatą strukturę wewnątrz matrycy polimerowej. Technika ta umożliwia uzyskanie jednorodnego rozkładu wielkości porów poprzez zastosowanie porogenu o określonym uziarnieniu, a także pozwala na kontrolę porowatości pianki poprzez stosowanie określonej ilości porogenu dodawanego do formy. Metodę tę charakteryzują pewne wady, takie jak obecność różnego rodzaju zanieczyszczeń wewnątrz pianki polimerowej czy emisja substancji niebezpiecznych. Z tych powodów technika ta nie jest często stosowana do wytwarzania pianek do stosowania na rany [49], [52]–[54].

#### Opatrunki hydrożelowe

Jednymi z najczęściej stosowanych opatrunków tradycyjnych są hydrożele, które można sklasyfikować również jako opatrunki trzeciej generacji. Stanowią one jedne z najbardziej skutecznych materiałów biomedycznych stosowanych w celu regeneracji skóry. Mogą być one wykonane z naturalnych polimerów: keratyna [55], kolagen [12], chitozan [56] i kwas hialuronowy [57], lub z polimerów syntetycznych takich jak: poli(alkohol winylowy) (PVA) [58], poli(winylopirolidon) (PVP) [59], [60], glikol polietylenowy (PEG) [61] i poli(metakrylan 2-hydroksyetylu) (pHEMA) [62] (**Rys. 1.4**).

Opatrunki hydrożelowe mają szerokie zastosowanie w gojeniu ran martwiczych, oparzeniowych, odleżyn i ran przewlekłych. Wysoka zawartość wody (70-90%)





zapewnia wilgotne środowisko i niedrażniące właściwości, co pozwala zminimalizować stan zapalny rany. Dodatkowo niskie napięcie międzyfazowe opatrunku hydrożelowego zwiększa jego biokompatybilność. W przypadku ran zakażonych opatrunki hydrożelowe można łatwo modyfikować środkami przeciwbakteryjnymi [63], [64].



**Rys. 1.4.** Przykładowe wzory strukturalne polimerów wykorzystywanych do syntezy hydrożeli pochodzenia naturalnego (N) oraz syntetycznego (S) [65]

Opatrunki hydrożelowe występują zazwyczaj pod postacią arkuszy hydrożelowych oraz hydrożeli amorficznych. Arkusze hydrożelowe są to idealnie przylegające, elastyczne i usieciowane plastry, zdolnych do pochłaniania dużej ilości wody, a także wysięku z ran. Natomiast amorficzna wersja to żel, który wypełnia każdą szczelinę rany, niezależnie od jej głębokości i kształtu, zapewniając w ten sposób odpowiednie nawilżenie oraz pH [29], [32].

Szczególną zaletą hydrożeli jest możliwość łatwej modyfikacji przy pomocy substancji aktywnych. Wyróżnia się dwie podstawowe metody:

- a) namaczanie gotowych hydrożeli w roztworze leku;
- b) dodawanie substancji aktywnej na etapie tworzenia hydrożelu.

Duża łatwość modyfikacji jest możliwa za sprawą wysoko porowatej struktury materiałów hydrożelowych, które są zdolne do uwalniania bardzo małych cząsteczek, a także dużych biomakromolekuł [66]. Szerokie zastosowanie zawdzięczają miękkości, elastyczności i utrzymaniu wilgoci, co sprzyja tworzeniu optymalnego środowiska





gojenia ran [67]. Prof. Winter w 1962 roku udowodnił, że naprawa uszkodzonych tkanek następuje w środowisku wilgotnym ponad dwukrotnie szybciej, niż w środowisku suchym [68]. Hydrożele tworzą skuteczną barierę przed wnikaniem drobnoustrojów, utrzymują ranę w czystości oraz wykazują właściwości chłodzące, które pomagają pacjentom w uśmierzeniu i łagodzeniu dolegliwości bólowych [67].

Podstawowy podział metod otrzymywania opatrunków hydrożelowych uwzględnia sieciowanie fizyczne oraz chemiczne. Hydrożele sieciowane fizycznie mają niższe właściwości mechaniczne, ale są zdolne do auto – regeneracji. Z kolei hydrożele sieciowane chemicznie wykazują wyższą wytrzymałość mechaniczną i są stabilniejsze [69]. Do technik sieciowania fizycznego, opartego najczęściej na wiązaniach niekowalencyjnych należą między innymi: sieciowanie jonowe [70], sieciowanie poprzez wiązania wodorowe [71], krystalizacja [71] czy sieciowanie poprzez oddziaływania hydrofobowe [69], [71]. Z kolei do chemicznych metod sieciowania hydrożeli, opartych na tworzeniu wiązań kowalencyjnych należą: reakcja koniugacji [72], polimeryzacja rodnikowa [73] i reakcja enzymatyczna [69], [74].

W literaturze opisano również metodę wytwarzania opatrunku hydrożelowego z wykorzystywanych w niniejszej pracy polimerów takich jak agar czy poliwinylopirolidon (PVP). Według patentu US4871490A [75], [76] opatrunek hydrożelowy wytwarzano z polimerów metodą sieciowania radiacyjnego z wodnego roztwóru zawierającego 2-10% wag. PVP, do 3% wag. agaru i 1-3% wag. poli(glikolu etylenowego). Sieciowanie następowało w następujących etapach: umieszczenie wodnego roztworu polimerów w formie, następnie szczelne zamknięcie formy i poddanie zawartości formy działaniu dawki promieniowania jonizującego w zakresie 25-40 KGy.

## Hydrożele bazujące na PVA

Hydrożele wykonane z PVA mają szerokie zastosowanie jako opatrunki przez co najmniej 30 lat. Wykazują dużą przejrzystość, odporność mechaniczną, biodegradowalność, biokompatybilność i zapewniają wilgotne środowisko podczas gojenia ran [77]. Ponadto PVA jest materiałem rozpuszczalnym w wodzie i jest zatwierdzony przez FDA do zastosowań medycznych [78]. Materiał ten stanowi również dobrą bazę do modyfikacji związkami antybakteryjnymi.





Cencetti wraz ze współpracownikami [79] otrzymali antybakteryjne opatrunki na rany, stosując polisacharydową gumę Gellan w połączeniu z PVA i tetraboranem sodu (boraks) jako środkiem sieciującym. Jako środek przeciwbakteryjny zastosowano azotan srebra (AgNO<sub>3</sub>). Zaobserwowano, że dodatek układu PVA/boraks pozwala na uzyskanie wyższej zawartości azotanu srebra wewnątrz struktury hydrożelu oraz pozwala kontrolować jego uwalnianie. Dodatkowo poprawił się stopień wypełnienia rany opatrunkiem w porównaniu z opatrunkiem złożonym z samej gumy Gellan, a uwalnianie AgNO<sub>3</sub> poprawiło działanie przeciwbakteryjne konstruktów przeciwko hodowli *S. aureus* oraz *P. aeruginosa*, występujących często w przypadku zakażeń bakteryjnych ran skórnych.

J.G. Lyons, i współpracownicy [80] otrzymali hydrożel składający się z PVA oraz agaru, w różnych stosunkach. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR, ang. *Fourier transform infrared spectroscopy*) wykazała powstanie oddziaływań wodorowych pomiędzy tymi składnikami występującymi pomiędzy ugrupowaniami –C–O–C– obecnymi w agarze i grupami OH pochodzącymi od PVA. Powstałe wiązania wodorowe skutkowały zmianą właściwości termicznych otrzymanych materiałów, tj. wyższą temperaturą topnienia hydrożelu w porównaniu do czystego agaru, zbadaną przy pomocy różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC, ang. *Differential Scanning Calorimetry*). Wyższą elastyczność w stanie uwodnionym wykazywały opatrunki hydrożelowe z większą zawartością agaru. Cechowały się także zdolnością do procesu cyklicznego uwadniania i suszenia. Polepszone właściwości mechaniczne oraz biokompatybilność wytworzonych hydrożel, umożliwiają ich potencjalne wykorzystanie w procesie gojenia ran [80].

Ponadto, potwierdzono również możliwość skutecznej modyfikacji hydrożeli bazujących na połączeniu PVA z chitozanem przy pomocy minocykliny, siarczanu (VI) gentamycyny, siarczanu (VI) amikacyny, cyprofloksacyny czy norfloksacyny. Zmodyfikowane w ten sposób opatrunki wykazują działanie antybakteryjne i przyspieszają zabliźnianie się ran [81].

#### Procesy sorpcyjne zachodzące w hydrożelach

Proces sorpcji wody przez hydrożel jest kontrolowany przez kilka zjawisk, m. in. oddziaływanie molekularne z cząsteczkami rozpuszczalnika, siły kapilarne, a także proces osmozy [82], [83]. Hydrożele mogą być rozważane jako systemy





kontrolowanego uwalniania leków ze względu na ich wysoką zdolność do inkorporacji cząsteczek substancji aktywnych wewnątrz sieci polimerowej. Sposób uwalniania leku (stałe, zmienne, opóźnione, przedłużone) z matrycy hydrożelowej silnie zależy od typu oraz właściwości fizykochemicznych leku (np. hydrofilowość, pKa, rozpuszczalność w wodzie). Ponadto, uwalnianie substancji aktywnej może być kontrolowane przez pęcznienie, procesy dyfuzyjne i chemiczne [84], [85].

Uwalnianie leku kontrolowane w sposób dyfuzyjny, odpowiedzialne za pęcznienie matrycy polimerowej można rozważać jako dwa osobne zjawiska, które zachodzą w tym samym czasie. Pierwszym z nich jest absorpcja wody lub mediów fizjologicznych przez matrycę hydrożelową, a drugim desorpcja leku z hydrożelu. W trakcie przenikania roztworu do wewnątrz matrycy polimerowej, hydrożel charakteryzuje się stanem szklistym. Podczas dalszej absorpcji mediów hydrożel zmienia swój stan na elastyczny, który związany jest z rozluźnieniem łańcuchów polimerowych. Proces ten odpowiada za pęcznienie hydrożelowej matrycy polimerowej [86], [87]. W tym stanie lek obecny w hydrożelu ma zdolność opuszczenia matrycy polimerowej, jednakże proces ten zależy od współczynnika dyfuzji medium i leku, szybkości pęcznienia, gęstości usieciowania hydrożelu, wielkości porów oraz szybkości relaksacji łańcuchów polimerowych [88].

Kinetykę absorpcji mediów oraz uwalniania substancji aktywnych przez hydrożel można badać za pomocą różnych modeli matematycznych. i najczęściej stosowanych należą modele zerowego, Do najpopularniejszych pierwszego i drugiego rzędu [89]-[91] oraz modele Pelega [92], Higuchi'ego i Korsmeyer'a - Peppas'a [93], [94]. Ostatni z modeli jest jednym z najczęściej stosowanych w analizie pęcznienia hydrożelu, a także profilu uwalniania leku. Pozwala on na obliczenie stałej kinetycznej (K), która zależy od grubości materiału i współczynnika dyfuzji, a także parametru dyfuzyjnego (n), który określa rodzaj mechanizmów dyfuzji występujących w hydrożelach [95].

Najczęściej obserwowanym rodzajem procesu dyfuzji jest dyfuzja Ficka (FD), zachodząca zgodnie z prawem Ficka, dla której wartość parametru n wynosi 0,5. W tym przypadku procesy dyfuzyjne zachodzą znacznie wolniej niż procesy relaksacyjne łańcuchów polimerowych. Dyfuzję typu II (CII) bierze się pod uwagę, gdy transport medium lub uwalnianego leku jest kontrolowany głównie przez proces dyfuzji (wysoki





współczynnik dyfuzji), który jest znacznie szybszy niż proces relaksacji łańcuchów polimerowych (n = 1). Dla dyfuzji nie – Fickowskiej (DNF) parametr n wynosi od 0,5 do 1,0. Charakteryzuje się ona anomalnym transportem, ponieważ proces dyfuzji i relaksacji łańcuchów polimerowych mają podobny udział w uwalnianiu leku lub wchłanianiu wody [86], [96], [97]. W sytuacji kiedy wykładnik dyfuzji jest mniejszy niż 0,5, proces dyfuzyjny można nazwać dyfuzją quasi-Ficka (DQF) i jest on charakterystyczny dla dyfuzji zachodzącej w matrycy niepęczniejącej [98].

#### Opatrunki hydroprzewodzące (kompozytowe)

Opatrunki hydroprzewodzące wykazują specyficzną wielowarstwową strukturę (**Rys. 2.5**), dlatego są również zamiennie nazywane opatrunkami kompozytowymi. Dzięki swojej budowie są one zdolne do wchłaniania wysięku a także do usuwania martwiczych pozostałości z łożyska rany, a następnie odseparowania ich od gojącej się rany [99]. Opatrunki tego typu wykazują wiele zalet, m. in. są wszechstronne i wygodne zarówno w przypadku ran częściowych, jak i głębokich. Większość opatrunków hydroprzewodzących składa się z trzech warstw (**Rys. 1.5**). Warstwa zewnętrzna chroni ranę przed infekcją, środkowa warstwa absorpcyjna zwykle składa się z materiału chłonnego, który utrzymuje wilgoć w środowisku i wspomaga autolityczne oczyszczanie rany, dolna warstwa kontaktowa składa się z nieprzylegającego materiału, który zapobiega przywieraniu do nowo tworzących się ziarninujących tkanek.

Ponadto niektóre opatrunki kompozytowe mogą również zawierać warstwę adhezyjną w postaci samoprzylepnej obwódki z taśmy włókninowej lub przezroczystej folii. Mogą pełnić funkcję opatrunku pierwotnego lub wtórnego na różnego rodzaju rany i mogą być stosowane z lekami stosowanymi miejscowo [5], [41].

Drawtex® był pierwszym dostępnym na rynku opatrunkiem hydroprzewodzącym charakteryzującym się wysoką chłonnością (do 30 – 50 – krotności własnej masy), a także łatwością usuwania z rany fragmentów tkanek martwiczych i stabilnościa w środowisku gojenia do 7 dni. Ortiz i jego współpracownicy po raz pierwszy zbadali w warunkach *in vitro* zdolność opatrunku Drawtex® do redukcji kolonii bakterii w pożywce, z którą miał kontakt [5], [100]. Zaobserwowano wówczas jednoczesny spadek liczby bakterii w pożywce i zwiększenie





ich ilości w badanym opatrunku, potwierdzając w ten sposób jego zdolność do zatrzymywania patogenów w swojej strukturze .



**Rys. 1.5.** Schematyczne przedstawienie opatrunku hydroprzewodzącego (kompozytowego) [101]

Przykład otrzymywania opatrunku kompozytowego przedstawiono m. in. w patencie US 20210252182 A1 [102]. Według wynalazku składa się on z porowatej warstwy matrycowej wykonanej z biomateriału oraz warstwy kontaktowej z tkaniny, przy czym warstwa ta jest częściowo osadzona w porowatej matrycy. Biomateriał stanowić mogą polimery naturalne jak: chitozan, alginiany skrobia, celuloza, żelatyna czy kolagen, ale także polimery syntetyczne jak: PVA, poli(tlenek etylenu) czy poli(tlenek propylenu). Sposób wytworzenia kompozytowego opatrunku obejmuje następujące etapy:

- a) kontaktowanie warstwy kontaktowej wykonanej z tkaniny z roztworem biomateriału (roztwór biomateriału powstaje przez rozpuszczenie biomateriału w wodzie, alkoholu, DMSO lub rozpuszczalniku organicznym),
- b) częściowe zanurzenie warstwy kontaktowej w roztworze biomateriału,
- c) zamrażanie roztworu biomateriału zawierającego zanurzoną częściowo warstwę kontaktową z kontrolowana szybkością (proces liofilizacji),
- d) usunięcie rozpuszczalnika z zamrożonego roztworu biomateriału.





Powyższy sposób pozwala na uzyskanie opatrunku hydroprzewodzącego o możliwościach chłonnych w zakresie od ok. 10 do 200 – krotności swojej masy bez stosowania klejów w celu łączenia warstw.

#### Opatrunki bioaktywne

Jednym z rodzajów nowoczesnych opatrunków są także opatrunki bioaktywne produkowane z biomateriałów odgrywających ważną rolę w procesie gojenia ran. Opatrunki te są znane ze swojej biokompatybilności, biodegradowalności i nietoksycznego charakteru. Materiały stosowane w celu wytwarzania opatrunków bioaktywnych pochodzą często ze źródeł naturalnych i są to bioaktywne polimery takie jak kolagen , kwas hialuronowy, chitozan, alginian i elastyna. Polimery te można stosować samodzielnie lub w połączeniu, w zależności od charakteru i rodzaju rany. Czasami do opatrunków bioaktywnych dodaje się czynniki wzrostu i środki antybakteryjne (np. białka antybakteryjne, miód Manuka czy substancje antybakteryjne pochodzenia syntetycznego), aby przyspieszyć proces gojenia się ran [5], [41].

Opatrunki bioaktywne można otrzymywać m. in. przy pomocy procesu podobnego do SC/PL poprzez rozpuszczenie biomateriału w odpowiednim rozpuszczalniku, dodanie porogenu, a następnie zestalenie, wymywanie porogenu i suszenie. Na przykład opatrunki bioaktywne na bazie kopolimeru chityny octowo – masłowej (BAC, ang. *Butyrate – acetate chitin*) wykonać można poprzez rozpuszczenie 3% wag. BAC w 96% etanolu. Następnie należy dodać porogen w postaci soli nieorganicznej (NaCl) a po zestaleniu płukać wodą dejonizowaną w temperaturze 40°C aż do wypłukania środka porotwórczego. Opatrunek następnie jest poddawany suszeniu w temperaturze 80°C. W celu naniesienia warstwy srebra otrzymana porowata warstwa jest natryskiwana zawiesiną metalicznego srebra przy pomocy dyszy natryskowej i myjki ultradźwiękowej [103].

#### Opatrunki zawierające substancje farmaceutyczne

Opatrunki zawierające leki odgrywają ważną rolę w procesie gojenia bezpośredniego poprzez uwalnianie leku do środowiska ran lub procesu pośredniego, poprzez usuwanie tkanek martwiczych. Efekt leczniczy w opatrunkach zawierających leki jest osiągany poprzez substancje oczyszczające tkankę martwiczą, substancje





przeciwzapalne, a także czynniki antybakteryjne, które zapobiegają infekcjom i wspomagają regenerację tkanek. W tego typu opatrunkach zawarte mogą być również czynniki wzrostu i enzymy. Komercyjnie dostępnych jest wiele opatrunków zawierających srebro w roli czynnika antybakteryjnego. Są to między innymi: Actisorb ®, SilvaSorb ® czy Acticoat ®. Dostępne opatrunki aktywowane srebrem mogą występować m. in. w postaci gazy, pianki, filmów, hydrokoloidów, hydrożeli, a także opatrunków kompozytowych [5], [41]. Otrzymywanie opatrunków zawierających substancje lecznicze jest więc zdeterminowane typem opatrunku. Na przykład w przypadku hydrożeli, których metody wytwarzania opisano wcześniej, substancje aktywne można wprowadzić zarówno na etapie wytwarzania hydrożelu, jak i po wytworzeniu hydrożelu poprzez późniejsze jego zanurzanie w roztworze zawierającym lek.

#### Dostępne handlowo opatrunki tradycyjne

Wzrost funkcjonalności opatrunków w ostatnich dekadach pociągnął za sobą także wzrost ich poziomu skomplikowania, poczynając od opatrunków tradycyjnych a kończąc na opatrunkach zaawansowanych, aktywnych czy substytutach skóry. W **Tabeli 1.2** przedstawiono przykłady dostępnych handlowo opatrunków tradycyjnych według rosnącej ilości warstw tworzących produkt opatrunkowy. Poszczególne warstwy zostały przedstawione w kolejności od najbardziej zewnętrznej do warstwy wewnętrznej, czyli kontaktu z łożyskiem rany.

W większości przypadków opatrunki składają się z trzech podstawowych warstw, a są nimi: warstwa zewnętrzna, absorpcyjna oraz kontaktowa. Warto dodać, że zazwyczaj warstwy te są ułozone jedna nad drugą w strukturę typu "sandwich". Podstawową funkcją warstwy zewnętrznej jest ochrona wewnętrznych warstw opatrunku i rany przed wpływem otoczenia, w tym wodoodporność. Dodatkowo, warstwa ta może wykazywać działanie antybakteryjne i antywirusowe, a także zapewniać wymianę gazów z otoczeniem celem zapewnienia wilgotnego środowiska gojenia się rany. Taka wielofunkcyjna warstwa zewnętrzna występuje m. in. w opatrunku czterowarstwowym Moderex Lite Foam Dressing **®** (**Tabela 1.2, pkt 11**) czy w produktach Mepilex **®** (**Tabela 1.2, pkt 7, 9, 13**).





Warstwa absorpcyjna w swojej najprostszej postaci (jednowarstwowej) ma za zadanie absorpcję i retencję wysięku z rany. Może ona być wykonana np. z pianki poliuretanowej (PUR), tak jak w produkcie pod nazwą oryginalną Hydrofera Blue Ready Border Dressing ® (Tabela 1.2, pkt 6) czy Mepilex Border Sacrum ® (Tabela 1.2, pkt 9). Powszechnym materiałem stosowanym na warstwy absorpcyjne jest hydrożel (np. w opatrunku Moderex Hydro – Cool Hydrogel Dressing ®, Tabela 1.2, pkt 10). Jego przewagą nad absorbentami piankowymi jest możliwość nawilżania łożyska rany. W celu zwiększenia szybkości pochłaniania wysięku jak i całkowitej zdolności sorpcyjnej. W nowocześniejszych opatrunkach hydroprzewodzących [5] stosuje się złożone warstwy absorpcyjne (produkty Mepilex ®, Tabela 1.2, pkt 11, 13), składające się np. ze znajdującej się najbliżej rany pianki PUR chłonącej wysięk z łożyska rany i transportującej go do perforowanej warstwy rozprowadzającej, a następnie do warstwy superabsorbentu np. poliakrylanowego, pełniącego funkcję retencyjna. Ponadto, w przypadku opatrunków Mepilex ®, poszczególne składowe warstwy absorpcyjnej sa wykonane w technologii Flex R, polegającej na charakterystycznym perforowaniu w celu nadania opatrunkowi elastyczności. Takie rozwiązanie pozwala na stosowanie tych opatrunków w miejscach zginania kończyn, np. na łokciach, kolanach.

Naproszą warstwą kontaktową może stanowić gaza tiulowa. Jest to najstarszy i zarazem najprostszy typ opatrunku znany już w czasach Starożytnego Egiptu [104], [105]. Obecnie gazy wykorzystywane są m. in. w formie zaimpregnowanej wazeliną, jak w opatrunku Lomatuel ® H. Nie jest ona jednak stosowana jako samodzielny opatrunek a jako warstwa pomiędzy raną a opatrunkiem wtórnym. Bardziej zaawansowane warstwy kontaktowe zazwyczaj wykonane są z silikonu (technologia Safetac ® w opatrunkach Mepilex ® - **Tabela 1.2, pkt 7, 9, 13** czy technologia OptiSil ® w produkcie Moderex Lite Foam Dressing ® - Tabela **1.2, pkt 11**). Tego typu rozwiązania ograniczają ryzyko maceracji rany i wycieku wysięku, ale także zapobiegają możliwości przywierania opatrunku do łożyska rany i ewentualnym uszkodzeniom w trakcie wymiany. W przypadku opatrunków chłonnych warstwa kontaktowa transportuje wysięk do warstwy absorpcyjnej.

Zdarza się, że opatrunki posiadają także osobną warstwę adhezyjną, jak w produkcie Alldress Absorbent Film Dressing ® (**Tabela 1.2. pkt 12**). Jeżeli opatrunki





nie mają wyszczególnionej konkretnie warstwy adhezyjnej, to rolę takiej warstwy spełnia zazwyczaj warstwa kontaktowa, która nie może przywierać do rany, natomiast powinna przylegać do zdrowej tkanki skórnej okalającej ranę.





Tabela 1.2. Przegląd opatrunków dostępnych na rynku według rosnącej ilości warstw wraz z rodzajem warstw, funkcjami i zastosowaniami (wybrane przykłady)

| L. p. | Opatrunek    | Ilość<br>warstw | Warstwy  | Funkcja warstwy  | Zastosowanie  | Lit.  |
|-------|--------------|-----------------|--|--|---|-------|
| 1     | Lomatuel ® H | 1               | 1)Warstwa kontaktowa<br>(gaza tiulowa w formie<br>siateczki impregnowanej<br>wazeliną) | umożliwienie swobodnego<br>przepływu wysięku do<br>opatrunku wtórnego,<br>zapobieganie<br>przywieraniu do rany,<br>zapewnienie bezbolesnej<br>zmiany opatrunku | oparzenia,<br>rany cięte,<br>otarcia i owrzodzenia<br>podudzi,<br>odleżyny,<br>miejsca ubytku po<br>przeszczepie skóry, | [106] |





| 2 | Exufiber ® | 1 | 1)Warstwa absorpcyjna<br>(z włókien wykonanych<br>z polialkoholu<br>winylowego - PVA) | pochłanianie i retencja<br>wysięku w formie żelu | rany sączące,<br>rany wrzodowe<br>(uciskowe, nóg i stóp)<br>oparzenia,<br>rany chirurgiczne,<br>rany przewlekłe,<br>rany głębokie | [107] |
|---|------------|---|---|--|---|-------|
|---|------------|---|---|--|---|-------|





| 3 | Vlivasorb ® | 2 | 1)Warswa zewnętrzna<br>(wykonana z włókniny<br>polipropylenowej - PP) | funkcja ochronna,<br>separacja wewnętrznych<br>warstw opatrunku i rany<br>od otoczenia | rany o dużej ilości<br>wysięku,<br>rany powierzchniowe w<br>fazie wysięku, np.<br>różnego pochodzenia<br>wrzody,<br>oparzenia II stopnia,<br>wtórnie gojące się rany<br>pooperacyjne, | [108] |
|---|-------------|---|---|--|---|-------|
|---|-------------|---|---|--|---|-------|




|  |   |                                   | rany po laparotomii |  |
|--|---|-----------------------------------|---------------------|--|
|  |   |                                   | przetoki            |  |
|  | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(polipropylen - PP,<br>polietylen - PE, celuloza,<br>poliakrylan sodu) | wchłanianie i retencja<br>wysięku |                     |  |





|   |   |   | 1)Warstwa zewnętrzna:                       | mocowanie opatrunku do                           | rany nisko i średnio      |       |
|---|---|---|---|--|---------------------------|-------|
|   | 3M <sup>TM</sup> Medipore <sup>TM</sup> + Pad | 2 | (Miękka, rozciągliwa                        | rany   | sączące się,              |       |
|   |   |   | włóknina)                                   | separacja od otoczenia,<br>nadawanie właściwości | rany ostre,<br>oparzenia, |       |
| Δ |   |   |   | elastycznych                                     | otarcia,                  | [109] |
| 4 |   |   |   |  | rany przewlekłe,          | [110] |
|   |   |   | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(PP, PE, celuloza, |  | pooperacyjne,             |       |
|   |   |   |   | wysieku  | obrzękowe                 |       |
|   |   |   | poliakrylan sodu)                           | wysięku  |                           |       |
|   |   |   |   |  |                           |       |
|   |   |   |   | funkcja ochronna,                                |                           |       |
| 5 | Mackesson Superabsorber<br>Polymer Dressing ® |   |   | separacja wewnętrznych                           |                           |       |
|   |   |   | 1)Warstwa zewnętrzna                        | warstw opatrunku i rany                          |                           |       |
|   |   |   |   | od otoczenia                                     | rany z dużą ilością       |       |





|  | 3 | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(polimer hydrofilowy) | <ul> <li>wiązanie wysięku w<br/>postaci żelu</li> </ul> | wysięku | [111] |
|--|---|--|---|---------|-------|
|  |   | 3)Warstwa kontaktowa *                         | funkcja adhezyjna                                       |         |       |





| 6 | Hydrofera Blue Ready Border<br>Dressing ™   | 3 | 1)Warstwa zewnętrzna<br>(półprzepuszczalna) *<br>2)Warstwa absorpcyjna<br>(pianka PUR) | zapewnienie właściwości<br>wodoodpornych,<br>działanie antybakteryjne<br>dzięki dodatkowi błękitu<br>metylenowego i gencjany<br>wchłanianie i retencja<br>wysięku | płytkie rany,<br>umiarkowany i wysoki<br>wysięk,<br>zainfekowane rany,<br>rany zagrożone infekcją, |       |
|---|---|---|--|---|--|-------|
|   | <ul> <li>A = 0</li> <li>A = 0<td>3)Warstwa kontaktowa<br/>(silikonowa)</td><td>funkcja adhezyjna</td><td>owrzodzenia stopy<br/>cukrzycowej,<br/>ostre rany,<br/>owrzodzenia nóg,<br/>rany przewlekłe</td><td>[112]</td></li></ul> |   | 3)Warstwa kontaktowa<br>(silikonowa)   | funkcja adhezyjna   | owrzodzenia stopy<br>cukrzycowej,<br>ostre rany,<br>owrzodzenia nóg,<br>rany przewlekłe            | [112] |





|   | Mepilex Self Adherent Foam<br>Dressing ® |   | 1)Warstwa zewnętrzna<br>półprzepuszczalna<br>(PUR)  | zapewnienie właściwości<br>wodoodpornych,<br>zabezpieczanie przed<br>wirusami i bakteriami,<br>umożliwienie<br>"oddychania" rany  | rany z wysiękiem jak<br>owrzodzenia<br>odleżynowe,  |       |
|---|--|---|---|---|---|-------|
| 7 |  | 3 | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(pianka PUR)<br>3)Warstwa kontaktowa<br>(silikonowa, technologia<br>Safetac ®) | absorpcja wysięku,<br>nadanie elastyczności<br>minimalizacja ryzyka<br>przywierania opatrunku do<br>łożyska rany.<br>zapewnienie dobrego<br>przylegania do zdrowej<br>tkanki skórnej okalającej<br>ranę | owrzodzenia nóg,<br>i stóp, rany pourazowe<br>(np. rozdarcia skóry),<br>rany chirurgiczne | [113] |





| 8 | ConvaMax Superabsorber ® | 4 | <ol> <li>Warstwa zewnętrzna</li> <li>Warstwa absorpcyjna</li> <li>(supersbeerbent) *</li> </ol> | wymiana gazowa<br>zapewnienie<br>wodoodporności<br>pochłanianie i retencja<br>wysieku | owrzodzenia kończyn<br>dolnych,<br>odleżyny,<br>owrzodzenia stopy                  | [114], |
|---|--------------------------|---|---|---|--|--------|
|   |                          |   | 3)Warstwa<br>rozprowadzająca *  | rozprowadzanie wysięku<br>po całej powierzchni<br>opartunku,<br>maksymalizacja        | cukrzycowej,<br>rany pooperacyjne, w<br>których doszło do<br>rozejścia się brzegów | [115]  |





|                           |  |                        | 4)Warstwa kontaktowa<br>(silikon)   | przepływu wysięku do<br>warstwy absorpcyjnej<br>mocowanie opatrunku<br>(właściwości przylepne) | -  |                 |
|---------------------------|--|------------------------|---|--|--|-----------------|
| 9 Mepilex Border Sacrum ® |  | 1)Warstwa zewnętrzna * | funkcja w odoodporna,<br>zabezpieczanie przed<br>wirusami i bakteriami,<br>zapewnianie "oddychania"<br>rany | rany z wysiękiem jak<br>owrzodzenia<br>odleżynowe,   |  |                 |
|                           |  | 4                      | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(pianka PUR)   | absorpcja wysięku z rany<br>(funkcja retencyjna),<br>równoważenie poziomu<br>wilgotności rany  | owrzodzenia stóp,<br>rany pourazowe (np.<br>rozdarcia skóry) i rany<br>chirurgiczne. | [116]–<br>[118] |
|                           |  |                        | 3)Warstwa kontaktowa<br>(silikonowa, technologia<br>Safetac ®)  | minimalizacja bólu w<br>trakcie wymiany,   |  |                 |





|    |   |   | 4)Warstwa adhezyjna *                       | zapobiega maceracji.<br>dopasowywanie się do<br>anatomii pacjenta<br>ochrona brzegów rany<br>przed kontaktem z<br>środowiskiem<br>zewnętrznym,<br>umożliwienie mocowania<br>do zdrowej tkanki skórnej<br>okalającej ranę |  |                 |
|----|---|---|---|--|--|-----------------|
| 10 | MODEREX HYDRO - COOL<br>HYDROGEL DRESSING ® | 4 | 1)Warstwa zewnętrzna<br>półprzepuszczalna * | zapewnienie<br>wodoodporności i ochrony<br>przed bakteriami,<br>przepuszczanie pary  | oparzenia II stopnia,<br>rany pooperacyjne,<br>miejsca z ubytkami<br>naskórka, | [119],<br>[120] |





|  |                       | wodnej – zapewnienie      | owrzodzenia żylne      |  |
|--|-----------------------|---------------------------|------------------------|--|
|  |                       | "oddychania" rany,        | podudzi,               |  |
|  |                       | umożliwienie obserwacji   | odleżyny i owrzodzenia |  |
|  |                       | rany poprzez zastosowanie | cukrzycowe.            |  |
|  |                       | materiałów transparentych |                        |  |
|  |                       | niskie właściwości        |                        |  |
|  |                       | sorpcyjne wobec wysięku,  |                        |  |
|  |                       | głównie funkcja           |                        |  |
|  | 2)Warstwa absorpcyjna | nawilżająca ranę          |                        |  |
|  | (hydrożel)            | (rezerwuar wody dla rany) |                        |  |
|  |                       | zapewnienie elastyczności |                        |  |
|  |                       | i komfortu użytkowania    |                        |  |
|  |                       | zapewnienie rusztowania i |                        |  |
|  | 3)Warstwa             | wzmocnienia               |                        |  |
|  | wzmacniająca          | mechanicznego dla         |                        |  |
|  | (perforowana) *       | opatrunku                 |                        |  |
|  |                       |                           |                        |  |





|    |                   |   | 4)Warstwa kontaktowa<br>(hydrożel)   | przede wszystkim funkcja<br>nawilżająca (rezerwuar<br>wody dla rany),<br>zapobieganie przyleganiu<br>opatrunku do uszkodzonej<br>tkanki skórnej |                                |       |
|----|-------------------|---|--|---|--------------------------------|-------|
| 11 | MODEREX LITE FOAM | 5 | 1)Warstwa zewnętrzna<br>lita *   | zwiększenie elastyczności<br>opatrunku,<br>zapewnienie<br>wodoodporności i ochrony<br>przed bakteriami.   | odleżyny,<br>rany chirurgiczne | [121] |
|    | DRESSING ®        |   | 2)Warstwa absorpcyjna<br>(superabsorbent;<br>prawdopodobnie<br>poliakrylany) | Pochłanianie i retencja<br>wysięku  | uszkodzenia skóry,             |       |





|  | <ul> <li>3)Warstwa<br/>rozprowadzająca<br/>(włóknina)</li> <li>4)Warstwa absorpcyjna<br/>porowata (pianka PUR)</li> </ul> | Rozprowadzanie wysięku<br>po całej powierzchni<br>opatrunku<br>Pochłanianie wysięku i<br>jego transportuj do<br>warstwy rozprowadzającej                         |  |
|--|---|--|--|
|  | 5)Warstwa kontaktowa<br>perforowana<br>(silikonowa; technologia<br>OptiSil ®)   | ograniczenie ryzyka<br>maceracji i wycieku<br>wysięku,<br>ułatwienie wymiany<br>plastra poprzez<br>przywieranie wyłacznie do<br>zdrowej skóry okalającej<br>ranę |  |





| 12 | Alldress Absorbent Film<br>Dressing ® | 5 | <ol> <li>Warstwa zewnętrzna<br/>porowata (włóknina<br/>poliestrowa)</li> <li>Warstwa<br/>półprzepuszczalna<br/>(włóknina poliestrowa)</li> </ol> | zabezpieczanie przed<br>bakteriami i wirusami,<br>utrzymywanie<br>integralności opatrunku<br>zapewnianie wymiany<br>gazów i wilgotnego<br>środowiska gojenia rany | wrzody cukrzycowe<br>odleżyny<br>nacięcia                   | [122] |
|----|---------------------------------------|---|--|---|---|-------|
|    |                                       |   | 3)Warstwa absorpcyjna<br>*   | absorbcja i retencja<br>wysięku,<br>zmniejszenie ryzyka<br>maceracji rany.  | chirurgiczne<br>rany szarpane<br>powierzchowne<br>oparzenia | [122] |
|    |                                       |   | 4)Warstwa kontaktowa z<br>raną (siateczka<br>poliestrowa)  | warstwy absorpcyjnej,<br>zapobieganie<br>przywieraniu opatrunku   |   |       |





|    |                       |   | 5)Warstwa adhezyjna *  | do łozyska rany<br>utrzymywanie opatrunku<br>w odpowiednim miejscu,<br>zapobieganie wyciekowi<br>wysięku,<br>zapobieganie zakażeniu z<br>zewnątrz   |  |                 |
|----|-----------------------|---|--|---|--|-----------------|
| 13 | Mepilex Border Flex ® | 5 | <ol> <li>Warstwa zewnętrzna<br/>porowata (PUR)</li> <li>Warstwa absorpcyjna<br/>perforowana (włókna<br/>poliakrylanowe)</li> <li>Warstwa<br/>rozprowadzająca<br/>(włóknina)</li> </ol> | funkcja oddychająca.<br>umożliwienie obserwacji<br>stanu wysięku<br>magazynowanie wysięku z<br>dala od rany<br>rozprowadzanie wysięku<br>po całej powierzchni<br>opatrunku,<br>maksymalizacja | rany wysiękowe, w<br>tym: owrzodzenia nóg,<br>rany urazowe (np.<br>rozdarcia skóry)<br>rany chirurgiczne,<br>terapia profilaktyczna<br>celem zapobiegania<br>uszkodzeniom skóry, np.<br>przy owrzodzeniach | [123]–<br>[127] |





|  |   | przepływu wysięku do<br>warstwy retencyjnej i<br>następnie do warstwy<br>zewnętrznej |  |
|--|---|--|--|
|  | 4)Warstwa absorpcyjna<br>porowata (pianka PUR)                      | pochłanianie wysięku z<br>rany<br>transport do wyższych<br>warstw opatrunku          |  |
|  | 5)Warstwa kontaktowa z<br>raną (silikon,<br>technologia Safetac ® ) | zmniejszenie ryzyka<br>bolesnej wymiany<br>opatrunku oraz maceracji<br>rany          |  |

\* nieokreślony materiał





# 1**1.4. Badania**właściwościfizykochemicznychi2mikrobiologicznych opatrunków

3 Badania fizykochemiczne i mikrobiologiczne produktów opatrunkowych 4 odgrywają bardzo istotną rolę z punktu widzenia oceny ich bezpieczeństwa, jakości oraz skuteczności. Umożliwiają one kompleksową ocenę właściwości materiałów 5 6 opatrunkowych, a także pomagają przewidzieć ich zachowanie w warunkach 7 użytkowania. Ponadto badania te pozwalają na projektowanie właściwości opatrunków 8 w taki sposób, by jak najlepiej spełniały swoje zadania terapeutyczne [128]. To dzięki 9 nim możliwy jest ciagły rozwój najnowocześniejszych generacji opatrunków, które w 10 coraz większym stopniu zaspokajają rozmaite potrzeby pacjentów.

Do najważniejszych celów prowadzenia badań fizykochemicznych należą: ocena właściwości mechanicznych [129]–[131], strukturalnych (morfologicznych) [128], [131]–[133], chemicznych [134]–[136], a także analiza właściwości absorpcyjnych [128], [130], [133], [137], przepuszczalności gazów [137] oraz ocena uwalniania substancji aktywnych [138]–[140] w przypadku opatrunków zmodyfikowanych lekami lub innymi związkami biologicznie aktywnymi.

17 Głównym celem opatrunków jest okrycie i ochrona rany, dlatego bardzo ważne 18 jest określenie ich wytrzymałości mechanicznej, które realizowane może być przy 19 pomocy maszyny wytrzymałościowej. Aby określić właściwości mechaniczne materiału 20 opatrunkowego, bada się m. in. moduł sprężystości (moduł Younga), wytrzymałość na 21 rozciąganie i stabilność termiczną. Moduł Younga definiuje odporność materiału na 22 odkształcenie pod wpływem przyłożonego napreżenia. Kiedy przyłożona siła 23 rozciągająca przekracza granicę sprężystości, materiał ulega nieodwracalnemu 24 odkształceniu. Z kolei wytrzymałość na rozciąganie określona jest jako maksymalna 25 siła rozciagająca, która materiał może wytrzymać tuż przed zerwaniem [130], [141]. 26 W badaniach prowadzonych przez Ma i współpracowników [130], [142] nad nowymi 27 materiałami do zastosowań opatrunkowych zbadano wpływ dodatku tlenku grafenu 28 (GO) do pianek nanokompozytowych wykonanych z kompozycji zawierających alginian sodu oraz PVA na ich wytrzymałość na rozciąganie oraz moduł Younga. 29 30 Uzyskane wyniki wykazały, że dodatek GO w ilości 2% znacząco zwiększył 31 wytrzymałość na rozciąganie i moduł sprężystości pianek nanokompozytowych.





Stwierdzono również, że GO może podwyższać właściwości mechaniczne materiału
wykonanego z mieszaniny alginianu sodu i PVA poprzez wzrost gęstości usieciowania
[130], [142].

35 Koleinvm badań istotnvm parametrem analizowanym W obszarze 36 mechanicznych jest elastyczność opatrunku, gdyż umożliwia ona pacjentowi swobode 37 ruchu i zapewnia odpowiednie przyleganie w miejscach zgięcia, np. na kolanach czy 38 łokciach. Elastyczne materiały opatrunkowe charakteryzują się wysokim modułem 39 Younga i wytrzymałością na rozciąganie [130], [143]. Badane przez Srivastava [130], 40 [144] oraz współpracowników badali wpływ dodatku dekstrozy do fibroiny jedwabiu 41 na elastyczność i wytrzymałość na rozciąganie. W przypadku niemodyfikowanej 42 fibroiny jedwabiu wydłużenie przy przy zerwaniu wynosiło  $3.2 \pm 0.7\%$ . Natomiast 43 dodatek 15% wag, dekstrozy zwiekszał wartość wydłużenia przy zerwaniu do stosunek 44 do  $40,1 \pm 2,5\%$  [144]. Jednym z elastycznych opatrunków dostępnych na rynku jest 45 Foam Lite<sup>TM</sup>, który jest opatrunkiem pjankowym przeznaczonym do stosowania na rany 46 z niskim wysiękiem. Zauważono, że opatrunek ten doskonale dopasowuje się do 47 ruchów ciała i pozycji ciała pacjenta [130]. Kolejnym elastycznym opatrunkiem 48 produkowanym w formie odpowiedniej dla różnych części ciała jest Biatain® [130], 49 [145].

50 W zakresie badań strukturalnych najpowszechniej analizowanymi parametrami 51 są wielkości porów i porowatość opatrunków [128], [131]. Jedną z najczęściej 52 wykorzystywanych metod w ocenie morfologi materiałów opatrunkowych jest 53 skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM, ang. Scanning electron microscopy), która 54 pozwala na dokładne określenie wielkości i rodzaju porów zarówno na powierzchni jak 55 i wewnatrz badanego materiału [131]. W badaniach prowadzonych przez Lee [133] 56 i współpracowników przy pomocy SEM porównano zakresy wielkości porów w wielu 57 dostępnych handlowo opatrunkach i analizowano ich wpływ na zdolność sorpcyjną oraz 58 właściwości lecznicze w warunkach in vivo. W przypadku opatrunku Medifoam ® N 59 zarówno średnice porów powierzchniowych jak i zakresy ich wielkości były najniższe 60 w porównaniu do pozostałych testowanych opatrunków (np. Allevyn ®, Biatain ®, 61 Permafoam (e) i wynosiły 25 – 75 µm (rozstęp 50 µm) dla porów zewnętrznych oraz 100 – 350 μm (rozstęp 250 μm) dla wielkości komórki. Zarówno najmniejsze rozmiary 62 jak i najmniejsze wartości rozstępu wielkości porów porów opatrunku Medifoam ® N 63





64 zapewniały najwyższe właściwości absorpcyjne i retencyjne w stosunku do wysięku 65 z rany, a także pozwoliły na utrzymywanie optymalnej wilgotności środowiska leczenia 66 rany. Ponadto w testach *in vivo* badany opatrunek Medifoam ® N wykazywał wysoki 67 potencjał farmaceutyczny [133]. Należy dodać, że porowata struktura opatrunku 68 wpływa również pozytywnie na jego zdolność do przepuszczania powietrza i pary 69 wodnej, która także jest kluczowym czynnikiem w procesie leczenia ran [130], [146].

70 Najczęściej stosowaną metodą analizy właściwości chemicznych opatrunków jest spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR, ang. Fourier -71 72 transform infrared spectroscopy), która pozwala na ustalenie lub weryfikację składu 73 chemicznego poprzez identyfikację konkretnych wiązań chemicznych i grup 74 funkcyjnych. Z punktu widzenia materiałów opatrunkowych zmodyfikowanych 75 substancjami farmaceutycznymi, ważnym zastosowaniem FTIR jest m. in. badanie 76 zawartości substancji w opatrunkach, badanie kinetyki uwalniania substancji 77 z opatrunków jak i również innych procesów kinetycznych, np. penetracji lub 78 biodystrybucji substancji [134]–[136], [147]. W pracy autorstwa Devi 79 i współpracowników [136] wytwarzano i badano potencjalne materiały opatrunkowe w postaci cienkich filmów wykonane z mieszaniny fibryny, chitozanu i alginianu sodu. 80 81 Przy pomocy FTIR potwierdzono silne sieciowanie fizyczne pomiędzy grupą 82 karboksylową alginianu a sprotonowanymi grupami aminowymi obecnymi w fibrynie 83 i chitozanie, zwane inaczej kompleksem polieletrolitowym [136].

84 Badania właściwości absorpcyjnych przeprowadzane są głównie w celu 85 ustalenia ilości wysięku jaki opatrunek jest w stanie wchłonąć i zatrzymać, co jest 86 bardzo istotne z punktu widzenia utrzymania wilgotnego środowiska rany. Skuteczne 87 zaprojektowanie opatrunku pod kątem zarządzania wilgocią znacznie przyspiesza 88 gojenie rany, a także zmniejsza ryzyko maceracji tkanek [128], [133], [137]. Stopień 89 absorpcji badanych opatrunków można mierzyć np. metodą grawimetryczną w medium jakim jest sól fizjologiczna buforowana fosforanami (PBS, ang. Phosphate buffered 90 91 saline) o stężeniu równym 0,01M i pH wynoszącym 7,4 [128] lub w wodzie [148]. 92 W pracy doktorskiej badania absorpcji rozwinięto o wyznaczenie modeli 93 matematycznych kinetyk pęcznienia badanych warstw opatrunkowych, co jest rzadko 94 spotykaną praktyką w dostępnych w literaturze badaniach właściwości sorpcyjnych





95 opatrunków. Modele te pozwalają na ocenę wpływu parametrów wytwarzania
96 opatrunku na jego końcowe właściwości chłonne.

97 W przypadku badań uwalniania substancji aktywnych z materiałów 98 opatrunkowych najpowszechniej spotykana metoda badawcza jest chromatografia 99 cieczowa (HPLC, ang. *High – pressure liquid chromatography*) [138]–[140]. Pozwala 100 ona na zbadanie szybkości uwalniania związków farmaceutycznych z opatrunku, 101 a także na określenie całkowitej ilości zawartego w opatrunku leku. Ponadto, 102 na podstawie badań HPLC można wyznaczyć krzywe uwalniania związku aktywnego 103 wraz z parametrami kinetycznymi, co pozwala określić jaki typ uwalniania zachodzi 104 w przypadku badanego materiału (np. uwalnianie gwałtowne, przedłużone czy 105 pulsacyjne).

106 Podstawowymi zadaniami prowadzenia badań mikrobiologicznych opatrunków 107 są: ocena ich aktywności przeciw drobnoustrojom, która minimalizuje ryzyko infekcji 108 i wspomaga proces gojenia, a także analiza bezpieczeństwa badanych opatrunków 109 wobec komórek ludzkiego ciała. W celu zbadania właściwości antybakteryjnych 110 powszechnie stosuje się szczepy bakterii Staphylococcus aureus oraz Pseudomonas 111 aeruginosa w połączeniu z np. agarowymi testami dyfuzyjnymi (ADT, ang. Agar 112 diffusion test) czy testami obciążeniowymi przeprowadzanymi wg japońskiej normy JIS 113 L 1902 (Japanese Industrial Standard L 1902) oraz AATCC 100 (ang. American 114 Association of Textile Chemists and Colorists) [149]. Z kolei przy ocenie 115 bezpieczeństwa opatrunku wykonuje się m. in. testy cytotoksyczności [150], proliferacji 116 [150] oraz migracji [150], [151] z wykorzystaniem np. komórek fibroblastów.

117 Testy ADT stanowia jedna z najprostszych metod analizy wpływu substancji 118 antybakteryjnej na badane szczepy bakteryjne umieszczone na płytkach hodowlanych. 119 Przeprowadzane moga być one według norm DIN 58940-3 oraz DIN EN ISO 20645 120 [149], według których mikroorganizmy są równomiernie rozprowadzane po płytce hodowlanej na podłożu agarowym, a następnie na tak przygotowanym podłożu 121 122 umiejscawia się badany opatrunek lub jego fragment. W celu oceny skuteczności danej 123 substancji antybakteryjnej przeciwko badanym bakteriom dokonuje się oceny tzw. 124 strefy zahamowania wzrostu (ZOI, ang. Zone of inhibition). Powstaje ona w momencie, 125 aktywna w określonym stężeniu jest skuteczna wobec kiedv substancja 126 mikroorganizmów i hamuje rozrost kolonii w pewnym promieniu od umieszczonego





materiału badanego. Niestety istotną wadą tej metody jest zależność od szybkości
dyfuzji substancji aktywnej z opatrunku do stałego podłoża agarowego [149]. Metody
JIS L 1902 oraz AATCC 100 w przeciwieństwie do ADT są niezależne od właściwości
dyfuzyjnych substancji aktywnej, a ponadto pozwalają na ilościową analizę aktywności
antybakteryjnej badanych opatrunków. Wyniki testów obciążeniowych mogą być
przedstawiane w formie procentowego spadku liczby bakterii (AATCC 100) lub jako
hamowanie wzrostu bakterii podawane w skali logarytmicznej (JIS L 1902) [149].

### 134 1.5. Technologia druku przestrzennego i jej zastosowania w 135 medycynie

Druk przestrzenny, który jest znany również pod nazwą technologii addytywnych (AM, ang. *Additive manufacturing*), stanowi nowoczesną i zaawansowaną cyfrową technologię wytwarzania różnego typu modeli i skomplikowanych struktur. Wydruk dokonywany jest na podstawie modeli zaprojektowanych wcześniej w środowisku projektowania wspomaganego komputerowo (CAD, ang. *Computer* – *aided design*) w sposób bezpośredni poprzez warstwowe nakładanie na siebie materiału [152], [153].

Bardzo szybki rozwój druku trójwymiarowego pozwala rewolucjonizować także rozmaite obszary współczesnej medycyny, oferując nowe możliwości m. in. w diagnostyce, leczeniu i rehabilitacji pacjentów. Obecne trendy badawcze nad wykorzystaniem technologii addytywnych w medycynie koncentrują się na następujących zagadnieniach:

- wytwarzanie spersonalizowanych bioaktywnych implantów i rusztowań
  tkankowych [154],
- produkcja modeli narządów wewnętrznych wspomagających lekarzy
   w planowaniu przedoperacyjnym i analizie leczenia chirurgicznego [154], [155],
- próby bezpośredniego druku tkanek i całych narządów w taki sposób by
  wykazywały kompletne funkcje fizjologiczne [154], [156], [157],
- prace nad drukiem systemów uwalniania substancji aktywnych [154], [158].

155 Tematyka niniejszej pracy doktorskiej dotycząca polimerowych systemów 156 uwalniania substancji aktywnych, a w szczególności obejmująca opatrunki uwalniające





157 substancje antybakteryjne związana jest z ostatnim z czterech wymienionych powyżej
158 zagadnień, tj. z drukiem systemów uwalniania leków.

159 Wykorzystywanie technologii addytywnych w zastosowaniach medycznych 160 niesie za sobą pytanie o to jakie korzyści daje takie rozwiązanie w porównaniu do 161 konwencjonalnych metod produkcyjnych. W pracy autorstwa Salmi [159] zebrano 162 szereg zalet druku przestrzennego w różnych obszarach medycznych:

- w ortopedii główną przewagą druku trójwymiarowego jest dokładność, niska
   cena, oszczędność czasu, personalizacja i możliwośc pełnego
   zautromatyzowania produkcji,
- w chrurgii jako zalety technologii addytywnych podaje się zmniejszone
   narażenie pacjentów na promieniowanie, lepsze zrozumienie anatomii i wyższą
   dokładność przeprowadzania operacji, oszczędność czasu, a także wysoki
   potencjał innowacyjny,
- w implantologii druk przestrzenny daje m. in. możliwość wytwarzania
  implantów o skomplikowanych geometriach, możliwość szybkiego
  otrzymywania form do odlewania implantów, mozliwość łatwej modyfikacji
  lekami,
- w stomatologii pozwala on na otrzymywanie implantów o porowatej
  powierzchni, co wspomaga proces osteoitegracji, zapewnia personalizację
  wytwarzanych implantów stomatologicznych, a także niższy nakład pracy
  ludzkiej [159].

178 W zastosowaniach opatrunkowych najczęściej stosowanymi technologiami 179 druku trójwymiarowego sa: warstwowe osadzanie stapianego materiału (FDM, ang. 180 Fused deposition modeling), stereolitografia (SLA, ang. Stereolithography), selektywne 181 spiekanie laserowe (SLS, ang. Selective laser sintering), natryskiwanie materiału 182 w postaci kropel (MJ, ang. *Material jetting*) zwane także *Polyjet* [152], [159] oraz 183 biodruk będący technologią druku z biokompatybilnych materiałów (biotuszy) 184 mogących zawierać żywe komórki [5], [159], [160]. Wszystkie powyżej wymienione 185 znajdują również obecnie zastosowanie w druku technologie materiałów 186 opatrunkowych [161], [162]. Druk przestrzenny może być wykorzystywany m. in. 187 do wytwarzania hydrożeli chitozanowych modyfikowanych nanocząstkami tlenku





188 cynku, hydrorożeli z mieszaniny kwasu garbnikowego i keratyny sieciowanej tlenkiem 189 grafenu, hydrożeli z mieszanin alginianu i nanocelulozy, a także opatrunków 190 wykonanych z poli(glikolu etylenowego) zmodyfikowanych azotanem srebra 191 i desferoksyaming [161]. Stosunkowo nowym podejściem jest biodruk tzw. substytutów 192 skóry, które maja za zadanie zastapienie uszkodzonej w znacznym stopniu tkanki 193 skórnej, a także pobudzenie organizmu do produkcji komórek skórnych i ECM w celu 194 przyspieszenia jej regeneracji. Substytuty skóry są także powszechnie dostępne handlowo i moga występowac w postaci jedno lub wielowarstwowej, komórkowej lub 195 196 bezkomórkowej oraz biologicznej bądź syntetycznej [163]. Zauważono, że 197 w zastosowaniach opatrunkowych druk przestrzenny najczęściej wykorzystywany jest 198 do wytwarzania opatrunków hydrożelowych. W dostępnej literaturze nie znaleziono 199 natomiast doniesień o wykorzystywaniu druku w technologii FDM w celu 200 otrzymywania warstw absorpcyjnych opatrunków kompozytowych. Z tego powodu 201 w niniejszej pracy doktorskiej postanowiono wykorzystać tę technologię na jednym 202 etapów tworzenia kompozytowego opatrunku, dotyczącego otrzymywania Z 203 porowatych matryc absorpcyjnych.

#### 204 Filamenty stosowane w druku przestrzennym do zastosowań medycznych

Obecnie najczęściej stosowanymi polimerami, które wykorzystuje się do
produkcji filamentów klasy biomedycznej są m. in.: poli(ε-kaprolakton) (PCL) [164],
polilaktyd (PLA) [165], poli(alkohol winylowy) (PVA) [166], hydroksypropyloceluloza
(HPC) [167], etyloceluloza (EC) [168], octan etylenowinylu (EVA) [168] lub
termoplastyczne poliuretany (TPU) [169], [170].

210 Ze względu na dużą biokompatybilność poliuretanów i możliwość szerokiej 211 modyfikacji ich właściwości mechanicznych, mogą być one z powodzeniem stosowane 212 do wytwarzania filamentów do druku w technologii FDM [171]. Na przykład, Tao 213 i współpracownicy [172] wytworzyli kompozytowe filamenty z kompozycji PUR/PLA, 214 z których następnie dokonali pomyślnego wydruku spersonalizowanej ortezy palca 215 wskazującego (Rys. 1.6). Struktura chemiczna PLA i PUR umożliwia uzyskanie 216 kompatybilnych mieszanin polimerowych. Grupy estrowe z PLA są kompatybilne 217 z elastycznymi segmentami PUR, a także mogą tworzyć wiązania wodorowe z grupami 218 uretanowymi obecnymi w sztywnych segmentach PUR. Wysoka kompatybilność





mieszanek PUR/PLA pozwala na prawidłowe wytłaczanie filamentu kompozytowego
i dobrą jakość wydruku [172], [173]. Fakt ten stanowił dla mnie przesłankę do
wykorzysatnia tego typu komponentów w przedstawianej pracy doktorskiej.



222 223

224

225

**Rys. 1.6.** Obraz przedstawiający: a) komputerowy model ortezy palca wskazującego, b) wydrukowaną ortezę palca wskazującego z kompozytowego filamentu PUR/PLA [172]

226 Filamenty wykonane wyłącznie z PLA również są szeroko stosowane w celu 227 wytwarzania wydruków w technologii FDM [174]. PLA jest nietoksycznym 228 i biodegradowalnym polimerem charakteryzującym się wysoką wytrzymałością 229 mechaniczną, dzięki czemu może poprawić biokompatybilność i właściwości 230 mechaniczne filamentu wykonanego z kompozycji PUR/PLA. Ponadto filamenty na 231 bazie PLA mogą być również wykorzystywane do wytwarzania biokompatybilnych 232 i biodegradowalnych rusztowań. Na przykład, Ranjan i inni [175] otrzymali filamenty 233 złożone z PLA, hydroksyapatytu (HA) i chitozanu (CS), które mogą być potencjalnie 234 wykorzystane do wytwarzania rusztowań wspomagających wzrost komórek kostnych.

235 Układy polimerowe zaprojektowane jako filamenty do drukowania 3D można 236 łatwo modyfikować wieloma związkami nieorganicznymi i organicznymi poprzez 237 wytłaczanie na gorąco (HME, ang. Hot melt extrusion). W celu poprawy właściwości 238 mechanicznych, termicznych, reologicznych i lepkosprężystych filamentów można 239 wypełniacze i plastyfikatory [176], [177]. zastosować Najpopularniejszymi 240 wypełniaczami i plastyfikatorami są: fosforan triwapniowy (TCP) [178], [179], 241 cytrynian trietylu (TEC) [177], hydroksyapatyt (HA) [180], mannitol [181] lub celuloza





242 mikrokrystaliczna (MMC) [182]. Ponadto filamenty można modyfikować środkami
243 smarnymi (np. glicerolem), aby rozwiązać problem blokowania materiału wewnątrz
244 dyszy [177], [183]–[185].

Filamenty polimerowe zmodyfikowane biologicznie aktywnymi związkami 245 246 można stosować do produkcji rusztowań tkankowych charakteryzujących się zwiekszona biokompatybilnościa, a także do drukowania niektórych systemów 247 248 dostarczania leków polimerowych (DDSs), takich jak tabletki czy opatrunki na trudno 249 gojące się rany [179], [186]–[188]. Najczęściej testowane składniki farmaceutyczne dla 250 systemów dostarczania leków drukowanych przy pomocy technologii FDM, to: 251 prednizolon, kwas acetylosalicowy, paracetamol, acetaminofen, teofiline 252 i indometacyne [185]. W dostępnej obecnie literaturze nie udało się natomiast odnaleźć 253 jakichkolwiek filamentów do druku 3D w technologii FDM, które byłyby 254 zmodyfikowane siarczanem (VI) amikacyny, która posłużyła jako modyfikator 255 filamentów PUR/PLA w niniejszej pracy doktorskiej.

256 Aktualna literatura nie dostarcza informacji o zastosowaniach filamentów kompozytowych PUR/PLA w zakresie wytwarzania materiałów opatrunkowych. 257 258 W związku z tym, postanowiono wykorzystać mieszaniny PUR/PLA o różnych 259 stosunkach masowych do wytworzenia filamentów, które mają posłużyć do wydruku 260 polimerowej warstwy matrycowej hybrydowego plastra opatrunkowego. Zastosowanie 261 PLA ma polepszyć biokompatybilność i właściwości mechaniczne gotowego wydruku, 262 a ponadto wpłynąć na degradowalność matrycy, co powinno pozytywnie wpływać na 263 uwalnianie się siarczanu (VI) amikacyny do środowiska gojenia się rany.





### 265 CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

### 266 **2. Cel i zakres pracy**

267 Celem pracy doktorskiej jest zaprojektowanie, otrzymanie, modyfikacja oraz 268 charakterystyka dwóch rodzajów kompozytowych opatrunków, które zgodnie 269 z panującymi obecnie trendami połaczą w sobie wiele funkcji takich jak: elastyczność, 270 wysokie własciwości chłonne w stosunku do wysięku z rany, możliwośc usuwania 271 tkanek marwticzych z okolic rany, zapewnienie wilgotnego środowiska gojenia rany, 272 łatwej wymiany oraz możliwość modyfikacji szeroko pojętymi substancjami 273 aktywnymi.

W założeniu każdy z dwóch opatrunków będzie się składał z warstwy zewnętrznej, adhezyjnej i hybrydowej warstwy absorpcyjnej zmodyfikowanej substancjami o działaniu antybakteryjnym, aby zaopiebiegać infekcjom ran w trakcie gojenia. Opatrunki te różnią się między sobą typem warstw absorpcyjnych, które wytwarzane są przy pomocy odmiennych od siebie technologii, a mianowicie:

- Wartstwa typu A – złożona z porowatej matrycy wykonanej przy pomocy techniki
SC/PL, zaimpregnowanej następnie hydrożelem zawierającym substancję
antybakteryjną – chlorowodorek cyprofloksacyny.

- Warstwa typu B – zawierająca porowatą matrycę drukowaną przy pomocy technologii
FDM zanurzoną następnie w hydrożelu zawierającym substancję antybakteryjną –
siarczan (VI) amikacyny.

285 Zastosowanie technologii FDM do wytworzenia porowatej matrycy warstwy
286 absorpcyjnej do tej pory nie było stosowane w przypadku opatrunków na rany.

Przedstawione powyżej warstwy absorpcyjne charakteryzują się strukturą "warstwy w warstwie", co stanowi istotną nowość technologiczną w odniesieniu do warstw absorpcyjnych opatrunków dostępnych handlowo, które najczęściej mają budowę jednowarstwową, a przy większej ilości warstw tworzących warstwę absorpcyjną są one ułożone piętrowo, jedna nad drugą (struktura typu "sandwich").

Zakres i kolejne etapy pracy badawczej przedstawiono na Rys. 2.1. Projekt obu
warstw absorpcyjnych zakłada, że każda z nich będzie składać z dwóch połączonych
z sobą warstw.





295 W warstwie absorpcyjnej typu A rolę matrycy porowatej typu A stanowi warstwa wytwarzana metodą SC/PL z mieszanin poliuretanowo (PUR) -296 297 polilaktydowych (PLA) lub mieszanin poliuretanu (PUR) z poli(alkoholem 298 winylowym) (PVA), a warstwa hydrożelowa A jest wykonana z PVA sieciowanego 299 tetraboranem sodu i zmodyfikowana antybakteryjnym siarczanem (VI) amikacyny. 300 Całość warstwy absorpcyjnej stanowi matryca porowata typu A pokryta hydrożelem 301 typu A. W przypadku warstwy absorpcyjnej typu B warstwa porowata typu B wykonana jest przy pomocy druku w technologii FDM z termoplastycznych filamentów 302 303 wykonanych z mieszanin TPU/PLA, a warstwa hydrożelowa typu B bazuje 304 na mieszaninach agaru pochodzenia naturalnego z polimerami syntetycznymi takimi 305 jak poli(alkohol winylowy) (PVA) czy poli(winylopirolidon) (PVP) sieciowanych 306 tetraboranem sodu i zmodyfikowanych antybakteryjnym siarczanem (VI) amikacyny. 307 Podobnie jak w przypoadku warstwy absorpcyjnej typu A, tak i tutaj całość warstwy 308 absorpcyjnej typu B stanowi porowata matryca typu B umieszczona w hydrożelu 309 typu B.

W ramach charakterystyki otrzymanych warstw absorpcyjnych różnego typu skupiono się na wykonaniu badań ich właściwości fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych. Pierwsze dotyczyły m. in. oceny właściwości mechanicznych (testy wytrzymałości na rozciąganie), strukturalnych (badania wielkości porów), chemicznych (badania FTIR), absorpcyjnych (wyznaczenie kinetyk pęcznienia hydrożeli), a także zdolności do uwalniania substancji antybakteryjnych (HPLC).

316 W niniejszej pracy badania nad absorpcją płynów przez warstwy hydrożelowe 317 otrzymywanych opatrunków rozszerzono o wyznaczenie matematycznych modeli 318 kinetyk pęcznienia wraz z ich parametrami kinetycznymi. Jest to istotna nowość 319 naukowa pozwalająca bezpośrednio ustalić wpływ rodzaju i ilości zastosowanych przy 320 produkcji hydrożelu komponentów na przebieg procesu absorpcji płynów. Tego typu 321 badania są czasem przeprowadzane dla potencjalnych materiałów opatrunkowych, 322 o czym donoszą publikacje naukowe, jednakże nie udało się odnaleźć doniesień o wyznaczaniu modeli matematycznych pęcznienia dla opatrunków dostępnych 323 324 komercyjnie.

325 Ocena właściwości mikrobiologicznych warstw absorpcyjnych dotyczyła badań 326 ich aktywności antybakteryjnej wobec wybranych szczepów bakterii. Z kolei





kompozytowe opatrunki złożone z warstwy zewnętrznej, adhezyjnej i wybranych
warstw absorpcyjnych poddano badaniom bezpieczeństwa wobec komórek ludzkich
(testy cytotoksyczności, proliferacji i migracji komórkowej).







6. Otrzymanie prototypowych opatrunków złożonych z warstwy zewnętrznej, adhezyjnej i absorpcyjnej

Badania mikrobiologiczne prototypowego opatrunku





**Rys. 2.1.** Plan pracy badawczej w części eksperymentalnej pracy doktorskiej





## 334 3. Sposób otrzymania hybrydowych warstw absorpcyjnych 335 opatrunku

336 Na potrzeby pracy doktorskiej opracowano i wykonano dwa typy (Typ A oraz 337 Typ B) hybrydowych warstw absorpcyjnych opatrunku o strukturze "warstwy w warstwie", które różniły się od siebie technologią otrzymywania i wykorzystanymi 338 339 w tym celu materiałami. Pierwszy typ warstwy absorpcyjnej (A) został wytworzony 340 metodą powlekania porowatych matrych typu A hydrożelem typu A. Dzięki tej 341 technologii możliwe jest uzyskanie warstwy absorpcyjnej opatrunku o wysokiej 342 zdolności chłonnej (poprzez zwiększenie właściwości sorpcyjnej porowatej matrycy 343 wykonanej metodą SC/PL przez pokrycie jej hydrożelem) oraz dobrej wytrzymałości 344 mechanicznej. Rozwiązania bazujące na połączeniu zalet płynących z połączenia 345 piankowych matryc porowatych i hydrożeli w obrębie jednej warstwy absorpcyjnej są 346 obecnie stosowane komercyjnie, jednakże sa to struktury typu "sandwich", tzn. warstwy 347 ułożone piętrowo jedna nad drugą. Drugi typ warstwy absorpcyjnej (B) został 348 wytworzony za pomocą technologii druku trójwymiarowego porowatych matryc 349 w technologii FDM (matryce porowate typu B) a następnie powlekania ich hydrożelem 350 typu B. W tym celu zastosowano prototypowe filementy wytworzone z kompozycji 351 PUR/PLA. Zastosowana metoda w założeniu ma pozwolić na precyzyjne zaprojektowanie struktury warstwy absorpcyjnej, tj. kształtu i wielkości porów, które 352 353 mają wpływ na proces pochłaniania wysięku oraz uwalniania substancji antybakteryjnej 354 do rany.

### 355 3.1. Warstwa absorpcyjna typu A

#### 356 3.1.1. Otrzymywanie porowatej matrycy typu A (SC/PL)

Porowate matryce typu A wytworzono za pomocą prostej i ekonomicznej techniki odlewania rozpuszczalnikowego połączonego z ługowaniem porogenu (SC/PL). W dalszej części pracy porowate matryce typu A nazwano kompozytowymi matrycami porowatymi (CPMs, ang. *Composite porous matrices*). W pierwszym etapie przygotowano 100 g mieszanki polimerowej zawierającej PUR (EpalineEpaflex 380 A 10 25, poli(estro uretan) oraz PLA (Ingeo 7032D) lub PVA (Mowiol 4-88, M<sub>w</sub> = 31 000 Da) w ilości 10, 20 lub 30% wag. Następnie, mieszaniny PUR/PVA rozpuszczono





364 w DMSO, a mieszaniny PUR/PLA rozpuszczono w mieszaninie THF/DMSO (1:6 365 wag./wag.). Roztwory mieszano w kolbach zaopatrzonych w chłodnice zwrotne 366 w temperaturze 90°C aż do rozpuszczenia polimerów. Stężenia wagowe mieszanin 367 polimerów PUR/PLA i PUR/PVA w roztworach DMSO i THF/DMSO wynosiły 20%. 368 W kolejnym kroku chlorek sodu (frakcja o średnicy  $50 - 200 \mu$ m) dodano jako porogen 369 do 10 gramów jednorodnych roztworów w warunkach intensywnego mieszania. Do 370 mieszaniny dodawano chlorek sodu do uzyskania konsystencji pasty (40 g NaCl). 371 Następnie mieszaninę przeniesiono do szklanych, okrągłych foremek (o średnicy 10 cm 372 i wysokości 0,5 cm) i umieszczono w zamrażarce na 48 godzin w temperaturze -20°C. 373 Otrzymane kompozytowe matryce porowate zanurzano w wodzie destylowanej na 7 374 dni, a następnie suszono przez 1 dzień w temperaturze 60°C. Symbole i opis 375 otrzymanych matryc zestawiono w Tabeli 3.1.

376

Tabela 3.1.Symbole otrzymanych kompozytowych matryc porowatych (CPMs) wraz z ich
 krótkim opisem.

| Symbol    | Opis                                  |
|-----------|---------------------------------------|
| PUR/10PLA | Matryce wykonane z PUR i 10% wag. PLA |
| PUR/10PVA | Matryce wykonane z PUR i 10% wag. PVA |
| PUR/20PLA | Matryce wykonane z PUR i 20% wag. PLA |
| PUR/20PVA | Matryce wykonane z PUR i 20% wag. PVA |
| PUR/30PLA | Matryce wykonane z PUR i 30% wag. PLA |
| PUR/30PVA | Matryce wykonane z PUR i 30% wag. PVA |

379

380 3.1.2. Otrzymywanie hydrożelu typu A (PVA sieciowany boraksem)

W pierwszym etapie otrzymano hydrożele typu A niezmodyfikowane cyprofloksacyną (UnMHs, ang. *Unmodified hydrogels*). W tym celu przygotowano osobno roztwory wodne PVA (4% wag.) i boraksu (2% wag.) w wodzie destylowanej. Proces rozpuszczania prowadzono w temperaturze 70°C przez 4 godziny przy pomocy mieszadła magnetycznego, do uzyskania homogenicznych mieszanin. Roztwory PVA i boraksu podgrzano następnie do 90°C i mieszano razem w stosunkach 1:3, 1:2 i 1:1 (wag./wag.) przez 2 godziny, do otrzymania jednorodnych, klarownych roztworów.





388 Hydrożele A zmodyfikowane chlorowodorkiem cyprofloksacyny (CLHs, ang. 389 Ciprofloxacin loaded hydrogels) otrzymano przez inkorporację chlorowodorku 390 cyprofloksacyny (Cipro) do wewnątrz sieci polimerowej hydrożeli w trakcie ich 391 otrzymywania. W pierwszym etapie przygotowano roztwór wodny zawierający 1,5% 392 wag. Cipro, 10% wag. kwasu L-askorbinowego (LAA) i 4% wag. PVA poprzez 393 mieszanie w temperaturze 90°C przez 2h, aż do uzyskania homogenicznego roztworu. 394 Następnie, do tak przygotowanwego roztworu wodnego Cipro, LAA i PVA dodawano wodny roztwór boraksu o stężeniu 2% wag. w trzech różnych proporcjach: 3:1, 2:1 lub 395 396 1:1 (wag./wag.). LAA zastosowano w celu obniżenia pH do odczynu kwaśnego 397 i uniknięcia w ten sposób wytrącania się Cipro. Dzięki temu zabiegowi otrzymane 398 roztwory wodne PVA-Cipro-LAA były jednorodne podczas mieszania z roztworem 399 boraksu. Symbole i opisy hydrożeli zarówno niezmodyfikowanych (H1-H3), jak 400 zmodyfikowanych Cipro (H4-H6) zestawiono w Tabeli3.2.Roztwory i 401 o wspomnianych wyżej proporcjach przeniesiono do okragłych form i suszono przez 24 402 godziny w temperaturze 20°C.

403

404 Tabela 3.2. Symbole otrzymanych hydrożeli A niezmodyfikowanych cyprofloksacyną
405 (UnMHs) oraz zmodyfikowanych cyprofloksacyną (CLHs) wraz z ich krótkim opisem

|                  | Symbol     | Opis   |
|------------------|------------|--|
|                  | Ш1         | Hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 1:1   |
| Hydrożala typu A | 111        | (wag./wag.)  |
| niozmodufikowana | <b>Ц</b> 2 | Hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 2:1   |
|                  | ΠΔ         | (wag./wag.)  |
| (UIIVIAS)        | Ш2         | Hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 3:1   |
|                  | ПЭ         | (wag./wag.)  |
|                  |            | Hydrożel sporządzony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i |
|                  | H4         | 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 1:1 |
| TT1A             |            | (wag./wag.)  |
| Hydrozele typu A | typu A     | Hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% |
| zmodyfikowane    | H5         | LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 2:1     |
| cyprofioksacyną  | nioksacyną | (wag./wag.)  |
| (CLHS)           |            | Hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% |
|                  | H6         | LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1     |
|                  |            | (wag./wag.)  |





407 3.1.3. Opracowanie metody łączenia porowatej matrycy typu A z hydrożelem
408 typu A

409 wytworzenia hybrydowych Do warstw absorpcyjnych uwalniajacych 410 cyprofloksacyne (F-HALs, ang. Foam - Hydrogel Absrorption Layer) zastosowano 411 technikę zanurzeniową. Otrzymane CPMs (Tabela 3.1) zanurzano przez 1 godzinę 412 w roztworach hydrożeli (Tabela 3.2) o temperaturze 90°C (aby zapobiec 413 przedwczesnemu żelowaniu). Następnie otrzymane F-HALs przeniesiono do suszarki 414 i suszono przez 24 godziny w temperaturze 40°C. W Tabeli 3.3 zestawiono zawartość 415 wszystkich F-HALs, a Rys. 3.1 obrazuje proces wytwarzania F-HALs.

416

417 Tabela 3.3. Symbole otrzymanych hybrydowych warstw absorpcyjnych (F-HALs) wraz z ich
418 krótkim opisem.

| Symbol | Opis   |
|--------|--|
| F-HAL1 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PLA pokrytej H4 |
| F-HAL2 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PLA pokrytej H5 |
| F-HAL3 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PLA pokrytej H6 |
| F-HAL4 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PVA pokrytej H4 |
| F-HAL5 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PVA pokrytej H5 |
| F-HAL6 | Warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PVA pokrytej H6 |







421 **Rys. 3.1.** Schemat otrzymywania hybrydowej warstwy absorpcyjnej typu A (tłumaczenie na

422 język polski na podstawie publikacji Carayon I., <u>Szarlej. P.</u> et al. Polyurethane based hybrid

423 *ciprofloxacin-releasing wound dressings designed for skin engineering purpose* [189])

424 3.2. Warstwa absorpcyjna typu B

425 3.2.1. Otrzymywanie prototypowych filamentów do druku 3D

426 Polimerowe filamenty, z których następnie przy pomocy technologii FDM 427 wytworzono porowate matryce typu B będące częścią składową warstw absorpcyjnych typu B, uzyskano za pomocą metody wytłaczania na gorąco (HME, ang. Hot melt 428 429 extrusion) przy użyciu wytłaczarki jednoślimakowej, dwustrefowej firmy Brabender. Temperatura wytłaczania zawierała się w przedziale 175-205°C, a prędkość obrotowa 430 431 wynosiła 60-120 RPM. W celu wytłoczenia filamentów wykorzystano następujące 432 substraty: PUR Epaline 390A 10 25 (Epaflex Polyurethanes), PLA 7032D 433 (IngeoBiopolymer).

434Pierwszym etapem otrzymywania porototypowych filamentów było435przygotowanie mieszanin granulatów PUR Epaline 390A 10 25 z dodatkiem 2,5 -43612,5% wag. PLA 7032D. Następnie tak przygotowane mieszaniny poddano wytłaczaniu437do postaci filamentów o średnicy 1,75  $\pm$  0,1 mm. Symbole uzyskanych próbek wraz438z objaśnieniami i parametrami wytłaczania zestawiono w Tabeli 3.4.

439

420

440 **Tabela 3.4.** Symbole, parametry wytłaczania i opis próbek uzyskanych filamentów





| Symbol       | Temp. I     | Temp. II    | Prędkość | Opis próbki           |
|--------------|-------------|-------------|----------|-----------------------|
|              | strefy [°C] | strefy [°C] | obrotowa |                       |
|              |             |             | [RPM]    |                       |
| TPU          | 195         | 185         | 70       | Filament wykonany w   |
|              |             |             |          | całości z PUR         |
| PLA          | 195         | 185         | 90       | Filament wykonany w   |
|              |             |             |          | całości z PLA         |
| COMP-2,5PLA  | 205         | 185         | 80       | Filament wykonany z   |
|              |             |             |          | dodatkiem 2,5% wag.   |
|              |             |             |          | PLA do PUR            |
| COMP-5PLA    | 205         | 185         | 80       | Filament wykonany z   |
|              |             |             |          | dodatkiem 5% wag. PLA |
|              |             |             |          | do PUR                |
| COMP-7,5PLA  | 195         | 185         | 120      | Filament wykonany z   |
|              |             |             |          | dodatkiem 7,5% wag.   |
|              |             |             |          | PLA do PUR            |
| COMP-10PLA   | 195         | 185         | 120      | Filament wykonany z   |
|              |             |             |          | dodatkiem 10% wag.    |
|              |             |             |          | PLA do PUR            |
| COMP-12,5PLA | 195         | 185         | 120      | Filament wykonany z   |
|              |             |             |          | dodatkiem 12,5% wag.  |
|              |             |             |          | PLA do PUR            |
|              |             |             |          |                       |

441

442 W celu modyfikacji filamentów siarczanem (VI) amikacyny (AMI) wybrano 443 jedną z kompozycji na podstawie właściwości fizykochemicznych i możliwości 444 wydruku wykonanego z niej filmentu. Modyfikację przeprowadzono na dwa sposoby. 445 Pierwszy sposób (AMI-1) polegał na modyfikacji wytłoczonego wcześniej filamentu. 446 Małe fragmenty filamentu (0,06-0,08 g) zanurzono w 5 ml 0,5% roztworu siarczanu (VI) amikacyny w wodzie dejonizowanej. Filament wyjęto po 7 dniach inkubacji 447 i suszono w suszarce próżniowej w 50°C przez 12 godzin i zważono. Drugi sposób 448 449 modyfikacji (AMI-2) polegał na dodaniu 0,5% wagowego siarczanu (VI) amikacyny do 450 granulatu, z którego następnie wykonano filament.





### 451 *3.2.2. Otrzymywanie matryc porowatych B (druk 3D FDM)*

452 Na podstawie testów możliwości wydruku oraz właściwości mechanicznych 453 kompozycji PUR/PLA, do wytworzenia porowatych matryc polimerowych wybrano 454 filament wytworzony z kompozycji COMP-7,5PLA. Pomimo wyższych wskaźnikó 455 właściwości mechanicznych kompozycji COMP-10PLA i COMP-12,5PLA, próby ich 456 wydrukowania zakończyły się niepowodzeniem ze względu na niską homogeniczność 457 kompozycji COMP-10PLA i COMP-12,5PLA.

458 Porowate matryce polimerowe zaprojektowano w programie FlashPrint, 459 a następnie wytworzono je w technologii FDM za pomocą drukarki 3D FlashForge 460 Inventor. Czas wydruku wynosił około 90 minut w przypadku matryc 461 prostopadłościennych i około 150 minut w przypadku matryc w kształcie wiosełek 462 przeznaczonych do prób wytrzymałości na rozciąganie. Parametry wydruku matryc 463 umieszczono w Tabeli 3.5. Projekty modeli matryc polimerowych o różnych 464 architekturach wypełnienia (heksagonalnej, liniowej oraz trójkątnej) przedstawiono na 465 **Rysunku 3.2**. Należy zwrócić uwagę, że pomimo zastosowania takiej samej gestości 466 wypełnienia dla wszystkich modeli (30%) otrzymywane struktury nie tylko wykazują 467 różne architektury wypełnienia, ale również odmienne wielkości porów. Porowate 468 matryce typu B otrzymano we współpracy z Panią mgr inż. Edytą Piłat z Katedry 469 Technologii Polimerów Politechniki Gdańskiej.

|                             | 5 1 5                            |
|-----------------------------|----------------------------------|
| Parametr                    | Wartość                          |
| Temperatura ekstrudera      | 215°C                            |
| Temperatura stolika         | 50°C                             |
| Prędkość druku              | 10 mm/s                          |
| Wysokość warstwy            | 0,18 mm                          |
| Liczba obrysów              | 2                                |
| Gęstość wypełnienia         | 30%                              |
| Wzór wypełnienia            | Heksagonalny, trójkątny, liniowy |
|                             | Heksagonalny: 3 mm               |
| Projektowana wielkość porów | Liniowy: 1,1 mm                  |
|                             | Liniowy: 3 mm                    |
|                             |                                  |

470 **Tabela 3.5.** Parametry wydruku porowatych matryc polimerowych





| 45°  |                            |
|------|----------------------------|
| 90°  |                            |
| Brak |                            |
| Brak |                            |
|      | 45°<br>90°<br>Brak<br>Brak |







### 476 3.2.3. Otrzymywanie hydrożelu typu B (Agar/PVA, Agar/PVP sieciowany boraksem)

Do otrzymania hydrożelu wykorzystano: agar pochodzenia naturalnego E406
(Biomus, Lublin, Polska), polimery syntetyczne: poliwinylopirolidon (PVP) K15
81390 (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) oraz poli(alkohol winylowy) (PVA) Mowiol
4-88 (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA), substancję sieciującą: tetraboran sodu (BOR)
Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> x 10 H<sub>2</sub>O (TechlandLab, Tarnobrzeg, Polska), substancję aktywną: siarczan
amikacyny (AM) 2,0. BP853 (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) i wodę dejonizowaną
1 klasy czystości jako rozpuszczalnik.

484 Hydrożele otrzymano poprzez fizyczne sieciowanie. W pierwszej kolejności rozpuszczono agar w wodzie o temperaturze wynoszącej ok. 100°C, intensywnie 485 486 mieszając. Następnie dodawanono PVP lub PVA i rozpuszczono w tych samych 487 warunkach. Do tak przygotowanych roztworów dodawano tetraboran sodu. Kolejnym 488 krokiem było wymrażanie hydrożeli w temperaturze -20°C przez 24 godziny 489 i rozmrażanie w temperaturze 22°C przez 24 godziny. Cykl ten powtórzono 3 razy, 490 a następnie hydrożele umieszczono w wodzie dejonizowanej na 24 godziny w celu 491 usunięcia nieprzereagowanych związków. Gotowe hydrożele następnie pakowano




- 492 próżniowo i przechowywano w temperaturze 4°C. Stosując tę procedurę przygotowano
- 493 jedenaście głównych rodzajów niezmodyfikowanych hydrożeli (**Tabela 3.6**).
- 494

# 495 **Tabela 3.6.** Symbole próbek hydrożeli i ich skład

|                  | Zawartość składników [% wag.] |      |     |     |                    |  |
|------------------|-------------------------------|------|-----|-----|--------------------|--|
| Symbol           | Woda                          | Agar | PVP | PVA | Tetraboran<br>sodu |  |
| AG               | 98,4                          | 1,6  | 0   | 0   | 0                  |  |
| AG/0.8BOR        | 97,6                          | 1,6  | 0   | 0   | 0,8                |  |
| AG/1.6BOR        | 96,8                          | 1,6  | 0   | 0   | 1,6                |  |
| AG/0.4PVP/0.8BOR | 97,6                          | 1,2  | 0,4 | 0   | 0,8                |  |
| AG/0.8PVP/0.8BOR | 97,6                          | 0,8  | 0,8 | 0   | 0,8                |  |
| AG/0.4PVP/1.6BOR | 96,8                          | 1,2  | 0,4 | 0   | 1,6                |  |
| AG/0.8PVP/1.6BOR | 96,8                          | 0,8  | 0,8 | 0   | 1,6                |  |
| AG/0.4PVA/0.8BOR | 97,6                          | 1,2  | 0   | 0,4 | 0,8                |  |
| AG/0.8PVA/0.8BOR | 97,6                          | 0,8  | 0   | 0,8 | 0,8                |  |
| AG/0.4PVA/1.6BOR | 96,8                          | 1,2  | 0   | 0,4 | 1,6                |  |
| AG/0.8PVA/1.6BOR | 96,8                          | 0,8  | 0   | 0,8 | 1,6                |  |
|                  |                               |      |     |     |                    |  |

496

497 Dwa rodzaje hydrożeli zmodyfikowano substancją czynną – siarczanem amikacyny. Dodawano go podczas syntezy hydrożelu w temperaturze 100°C przy 498 499 intensywnym mieszaniu. Ilość siarczanu amikacyny wynosiła 0,072% na masę 500 hydrożelu dla próbek AG/0.8PVP/0.8BOR/AM oraz AG/0.8PVA/0.8BOR/AM. 501 W przypadku hydrożeli HB 1 oraz HB 2, które zostały przygotowane do badań uwalniania siarczanu amikacyny oraz oceny cytotoksyczności, proliferacji i migracji 502 503 komórek, masy zawartości siarczanu amikacyny wynosiły kolejno 0,1 oraz 0,2 % wag. 504 Skład modyfikowanych hydrożeli przedstawiono w Tabeli 3.7.

- 505
- 506
- 507

508 **Tabela 3.7.** Skład hydrożeli zmodyfikowanych siarczanem amikacyny

Symbol

Zawartość składników [% wag.]





|                     | Wada   | A    | <b>Β</b> Ι/Β |     | Tetraboran | Siarczan  |
|---------------------|--------|------|--------------|-----|------------|-----------|
|                     | vv oda | Agar | PVP          | PVA | sodu       | amikacyny |
| AG/0.8PVP/0.8BOR/AM | 97,528 | 0,8  | 0,8          | 0   | 0,8        | 0,072     |
| AG/0.8PVA/0.8BOR/AM | 97,528 | 0,8  | 0            | 0,8 | 0,8        | 0,072     |
| HB_1                | 97,5   | 0,8  | 0            | 0,8 | 0,8        | 0,1       |
| HB_2                | 97,4   | 0,8  | 0            | 0,8 | 0,8        | 0,2       |

510 Aby wybrać próbki hydrożeli do modyfikacji siarczanem amikacyny, zmierzono 511 i obliczono kinetykę pęcznienia wraz z gęstością, średnią masą cząsteczkową między 512 węzłami sieci oraz gęstość usieciowania. Na podstawie wyników tych parametrów 513 wybrano próbki o najwyższych zdolnościach chłonnych i zmodyfikowano je substancją 514 aktywną. Następnie zbadano równowagową zawartość wody, przeprowadzono analizę 515 FTIR oraz zmierzono kąty zwilżania próbek hydrożelowych przed i po procesie 516 modyfikacji.

517 3.2.4. Opracowanie metody wytwarzania opatrunku hybrydowego

518 W celu wytworzenia opatrunku hybrydowego, dokonano testów łączenia 519 warstw: zewnętrznej, warstwy absorpcyjnej typu B oraz warstwy adhezyjnej 520 z wykorzystaniem następujących związków:

521

• Klej tkankowy HISTOACRYL – klej na bazie cyjanoakrylanu,

522

Klej tkankowy IFABOND – klej na bazie cyjanoakrulanu n – heksylu,

523 • 5% wag. roztwór wodny poli(alkoholu winylowego) w wodzie
524 destylowanej (użyty PVA: Emprove<sup>®</sup> Essential, Sigma Aldrich, Poznań, Polska,
525 Mc = 31 000 g/mol).

526 Próby łączenia warstw wykonywano z wykorzystaniem każdego z powyższych 527 związków osobno. Łączenie warstw następowało poprzez naniesienie powyższych 528 związków do wewnątrz warstwy zewnętrznej opatrunku oraz na powierzchnię 529 porowatej matrycy polimerowej drukowanej przy pomocy technologii FDM. Następnie, 530 porowatą matrycę umieszczano w zewnętrznej warstwie ochronnej i zalewano 531 hydrożelami B o oznaczeniach HB\_1 oraz HB\_2 w formie ciekłej i pozostawiano do





532 krzepnięcia w temperaturze 20 °C. Ostatnim etapem było nałożenie warstwy
533 adhezyjnej.

Podjęte próby wstępne wykazały, że dogodnym materiałem od strony technicznej do łączenia warstw opatrunku i do zastosowania jako warstwa adhezyjna to 5% wag. roztwór wodny poli(alkoholu winylowego) w wodzie destylowanej. W przypadku klejów HISTOACRYL oraz IFABOND dochodziło do zniszczenia zewnętrznej warstwy ochronnej i drukowanej matrycy poliuretanowej ze względu na ich wrażliwość na związki cyjanoakrylanowe.

540 Kształt i wielkość wytwarzanych próbek opatrunków dostosowano do 6 –
541 dołkowych płytek testowych, aby móc przeprowadzić badania mikrobiologiczne
542 (**Rys. 3.3**).



543

544 Rys. 3.3. Fotografia płytek testowych dołkowych stosowanych do otrzymywania opatrunków
 545 o srednicy 3,4 cm

546

547 Finalnie otrzymano 2 rodzaje opatrunków hybrydowych: HO\_1 (zawierający

548 w warstwie absorpcyjnej hydrożel HB\_1 i matrycę porowatą B) oraz opatrunek HO\_2

549 (zawierający w warstwie absorpcyjnej hydrożel HB\_2 i matrycę porowatą B).





# 551 4. Metodyka badań

- 552 4.1. Warstwa absorpcyjna typu A
- 553 4.1.1. Porowate matryce typu A (PUR/PLA i PUR/PVP)
- 554 Badanie wielkości porów i porowatości

555 Ocene morfologiczną otrzymanych porowatych matryc typu A przed i po 556 degradacji przeprowadzono przy użyciu mikroskopu cyfrowego, model avp028f8, 557 certyfikowanego przez FC & CE (Flood Control and Coastal Emergency) oraz RoHS 558 (Restriction of HazardousSubstances). Obrazy obserwowano przy powiększeniach 40x 559 i 800x. Do rejestracji obrazów mikroskopowych wykorzystano komputer stacjonarny 560 z oprogramowaniem VidCap. Uzyskane obrazy pozwoliły również na określenie 561 wielkości i rodzaju porów oraz dodatkowo ocenę wzajemnych połączeń porów. 562 Do analizy obrazów mikroskopowych wykorzystano oprogramowanie ImageJ 563 (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. NationalInstitutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 564 1997-2021) [189]. Porowatość obliczano za pomocą następującego równania (1):

$$P = 1 - \left(\frac{V_1 - V_2}{V_2 - V_3}\right) \times 100\%$$
 (1)

565

566 gdzie:
567 V<sub>1</sub> - objętość etanolu [cm<sup>3</sup>];
568 V<sub>2</sub> - objętość etanolu po zanurzeniu matrycy [cm<sup>3</sup>];
569 V<sub>3</sub> - objętość etanolu po usunięciu matrycy [cm<sup>3</sup>].
570
571 Badanie degradacji krótkoterminowej i długoterminowej

572 Badania degradacji przeprowadzono metodą standardową dla potencjalnych 573 materiałów do zastosowań medycznych z wykorzystaniem roztworów wodnych 5M 574 NaOH, 2M HCl i 0,01 PBS (roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanami). Jest 575 to standardowa metoda badawcza dla biomateriałów opisana wcześniej w literaturze 576 [189]–[191].

577 Z otrzymanych porowatych matryc wycięto okrągłe próbki (średnica = 0,7 cm,





powierzchnia =  $0.38 \text{ cm}^2$ , grubość = 0.2 cm). Z każdego rodzaju matryc pobrano po trzy 578 579 próbki i przechowywano je w 1,5 ml wybranego medium degradacyjnego. Proces 580 degradacji prowadzono w temperaturze 37°C przez 7 i 14 dni (5M NaOH i 2M HCl) lub przez 1, 7, 14, 28 i 56 dni (0,01 M PBS). Przed badaniami próbki suszono i ważono 581 582 przy użyciu wagosuszarki (RADWAG MAX50/SX) w temperaturze 60°C. Po procesie degradacji próbki płukano wodą destylowaną, suszono w temperaturze 60°C przez 24 h 583 584 i ponownie ważono. Ubytek masy próbek mierzono za pomocą następującego wzoru (2). 585

$$\Delta M = \left(\frac{m_i - m_0}{m_0}\right) \times 100 \%$$
<sup>(2)</sup>

586

| 587 | gdzie:                                   |
|-----|--|
| 588 | ΔM - ubytek masy [%];                    |
| 589 | m <sub>0</sub> - masa początkowa [g];    |
| 590 | m <sub>i</sub> - masa po degradacji [g]. |

591

#### 592 Analiza statystyczna

593 Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Origin Pro 594 8.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Do wyznaczenia różnic 595 statystycznych wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ), 596 dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ) oraz test Tukeya ( $\alpha = 0,05$ ) (n=3) 597 [189].

598 4.1.2. Hydrożele A (PVA sieciowany boraksem)

599 Badanie struktury chemicznej przy pomocy spektroskopii w podczerwieni 600 z transformacją Fouriera (FTIR)

Badanie próbek za pomocą spektrometru FTIR pozwala na wyznaczenie drgań
charakterystycznych dla grup funkcyjnych występujących w materiale. Aby wykazać
obecność charakterystycznych wiązań w otrzymanych hydrożelach, próbki badano
za pomocą spektrometru Nicolet 8700 (ThermoElectron Corporation, Wilmington, DE,
USA) wyposażonego w moduł z przystawką ATR GoldenGate firmy Specac. Badanie





prowadzono z rozdzielczością 4 cm<sup>-1</sup>. Każdą próbkę badano stosując 256 skanów
na próbkę w zakresie widmowym od 4000 do 500 cm<sup>-1</sup> [189]. Badanie FTIR wykonano
we współpracy z Katedrą Chemii Fizycznej Politechniki Gdańskiej.

609 Badanie morfologii powierzchni z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii 610 elektronowej (SEM) sprzężonej ze spektroskopią rentgenowską z dyspersją energii 611 (EDX)

612 Morfologie hydrożeli w postaci suchej badano za pomocą mikroskopu 613 elektronowego FEI QUANTA 250 FEG SEM (Thermo Fisher Scientific, Waltham, 614 MA, USA) przy napięciu przyspieszającym 20 kV i powiększeniu 1000x i 2500x. 615 pierwiastkowego hydrożeli Do określenia składu zastosowano spektrometr 616 rentgenowski z dyspersją energii. Czas skanowania pomiaru wynosił 200 s na próbkę. Przed analiza hydrożele pocieto na cylindryczne próbki (średnica = 0.8 cm, 617 618 powierzchnia =  $0.5 \text{ cm}^2$ ) i pokryto złotem za pomoca napylarki Quorum 150T E (Quorum Technologies, Laughton, East Sussex, UK). Analize EDX przeprowadzono 619 620 3 razy dla każdego typu próbki zmodyfikowanej chlorowodorkiem cyprofloksacyny 621 [189]. Analizę SEM i EDX przeprowadzono we współpracy z Instytutem 622 Nanotechnologii i Inzynierii Materiałowej Politechniki Gdańskiej.

623 Analiza statystyczna

624 Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Origin Pro 625 8.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Do wyznaczenia różnic 626 statystycznych wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ), 627 dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ) oraz test Tukeya ( $\alpha = 0,05$ ) (n=3) 628 [189].





630 4.1.3. Warstwa absorpcyjna typu A (porowata matryca typu A impregnowana
631 hydrożelem A)

632 Badanie uwalniania chlorowodorku cyprofloksacyny z warstw absorpcyjnych typu A 633 przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)

634 Uwalnianie substancji czynnych z wytworzonych hybrydowych warstw 635 absorpcyjnych (F-HAL1-F-HAL6) przeprowadzono za pomocą systemu Agilent 1200 LC składającego się z autosamplera ALS, pompy binarnej, odgazowywacza, 636 termostatowanej komory kolumny i detektora DAD ( $\lambda = 277$  nm). Rozdzielanie 637 638 chromatograficzne substancji czynnej (Cipro) przeprowadzono na kolumnie ZORBAX Eclipse XDB-C8 (Agilent) LC (150 x 4,6 mm, 5 µm) w warunkach izokratycznych 639 z mieszanina 0,02 M roztworu KH2PO4 (zakwaszonego do pH = 2,7) i acetonitryl 640 641 (80:20 obj./obj.). Zastosowano szybkość przepływu 0,8 ml/min, a objętość 642 wstrzyknięcia ustalono na 20 µl. Temperaturę kolumny utrzymywano na poziomie 643 35°C. Kalibrację Cipro przeprowadzono metodą kalibracji zewnętrznej. Robocze 644 roztwory wzorcowe (0,5, 1, 5, 10, 50, 100 ug/ml) przygotowywano codziennie przez 645 rozcieńczanie roztworu podstawowego wodą destylowaną i analizowano w trzech 646 powtórzeniach (n = 3). Próbki (F-HAL1-F-HAL6) pocięto na kawałki o średnicy = 0,7 647 cm i grubości = 0,2 cm). W kolejnym kroku przygotowane próbki zanurzono w wodzie dejonizowanej (5 ml) i inkubowano w temperaturze 37°C. Po określonym czasie 648 649 inkubacji dla każdej próbki analizowano fazę wodną. Próbki przygotowano i analizowano w trzech powtórzeniach [189]. Badania HPLC przeprowadzono 650 651 we współpracy z Katedra Chemii Analitycznej Politechniki Gdańskiej.

652 Analiza statystyczna

653Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Origin Pro6548.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Do wyznaczenia różnic655statystycznych wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ),656dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ) oraz test Tukeya ( $\alpha = 0,05$ ) (n=3)657[189].





#### 658 4.2. Warstwa absorpcyjna typu B

659 4.2.1. Wstępna ocena materiałów PUR/PLA (otrzymanych metodą wtrysku)
660 przeznaczonych na filamenty

661 Badania wytrzymałościowe materiałów TPU/PLA przeznaczonych na filamenty

662 Wytrzymałość na rozciąganie ( $T_{SB}$ ), moduł Younga (E), wydłużenie przy 663 zerwaniu ( $\epsilon$ ) oraz wydłużenie trwałe ( $\epsilon_p$ ) TPU, PLA oraz materiałów otrzymanych 664 z kompozycji TPU/PLA badano za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej 665 Zwick&Roell Z020 na podstawie normy PN-EN ISO 527-1-3:1998, PN-EN ISO 527-4-666 5-2000 i PN-ISO 37:2007 z prędkością 150 mm/min i drogą pomiarową wynoszącą 667 20 mm [192].

668 Badanie twardości

Twardość otrzymanych materiałów mierzono metodą Shore'a według PN-EN
ISO 868:2005 przy użyciu elektronicznego twardościomierza Shore'a typu D. Wyniki
określono jako średnią z dziesięciu pomiarów. Uzyskane dane przedstawiono w skali
Shore'a (Sh D).

673 4.2.2. Prototypy filamentów (otrzymane przez wytłaczanie)

674 Badanie struktury chemicznej przy pomocy spektroskopii w podczerwieni 675 z transformacją Fouriera (FTIR)

Analizę spektroskopową w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)
przeprowadzono przy pomocy spektrometru FTIR Nicolet 8700 w temperaturze
pokojowej. W skład wyposażenia urządzenia wchodził moduł z przystawką ATR (ang.
Attenuated Total Reflectance) GoldenGate firmy Specac. Zakres spektralny obejmował
przedział 4000–500 cm<sup>-1</sup>. Liczba skanów na próbkę wynosiła 254, przy rozdzielczości
wynoszącej 4 cm<sup>-1</sup> [192]. Badanie FTIR wykonano we współpracy z Katedrą Chemii
Fizycznej Politechniki Gdańskiej.





683 Badanie stanu powierzchni przy pomocy mikroskopii optycznej (MO) 684 i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM)

Powierzchnię filamentów TPU/PLA otrzymanych w procesie wytłaczania badano stosując skaningowy mikroskop elektronowy FEI Quanta 250 FEG przy napięciu przyspieszającym 10 kV. Przed badaniem próbki pokryto 15 nm warstwą złota w urządzeniu do napylania katodowego Leica EM SCD 500 [192]. Analizę przeprowadzono we współpracy z Instytutem Nanotechnologii i Inzynierii Materiałowej Politechniki Gdańskiej.

691 Stan powierzchni zarówno przed jak i po procesie degradacji krótkoterminowej 692 oraz kalcyfikacji filamentów TPU/PLA badano mikroskopem optycznym XREC 693 stosując powiększenia x40 i x800. W przypadku analizy degradacyjnej oceniano 694 obecność pęknięć i ubytków na powierzchni badanych filamentów. Odporność 695 filamentów na kalcyfikacje oceniano na podstawie obecności na powierzchni 696 wytrąconych soli fosforanowo – wapniowych [192].

697 Degradacja krótkoterminowa

698 Badanie degradacji krótkoterminowej przeprowadzono w następujących mediach: 2 M HCl<sub>(aq)</sub>, 5 M NaOH<sub>(aq)</sub> i 0,1 M CoCl<sub>2</sub> w 20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Jest to standardowa 699 700 procedura opisana wcześniej w literaturze [191], [193]-[195]. Można przyjąć, że 15 dni 701 ekspozycji na działanie 0,1 M CoCl<sub>2</sub> w 20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> odpowiada 10 tygodniom 702 przebywania próbki w warunkach in vivo [195]. Filamenty pocięto na odcinki 703 o długości ok. 1 cm, a następnie tak przygotowane próbki suszono i ważono przy użyciu 704 wagosuszarki (RADWAG MAX50/SX), ustawionej na 60°C do uzyskania stałej masy 705 (ubytek masy poniżej 1 mg/120 s). Przygotowano 9 próbek każdego z badanych 706 filamentów (po 3 próbki na każde medium degradacyjne) i umieszczono następnie 707 w płytkach testowych wypełnionych 5 ml wybranych mediów degradacyjnych: 708 roztworem utleniającym 0,1 M CoCl2/20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, kwaśnym roztworem 2M HCl oraz 709 zasadowym roztworem 5 M NaOH. Próbki inkubowano w 37°C, a zmiany masy próbek 710 badano po 15 dniach. Próbki wyjmowano z roztworów, przemywano i umieszczano na 711 arkuszu papieru celem wstępnego osuszenia próbek. W celu wysuszenia i zważenia, 712 próbki ponownie umieszczano w wago suszarce w temperaturze 60°C, do uzyskania





stałej masy (ubytek masy poniżej 1 mg/120 s) [192]. Ubytek masy obliczono według
wzoru (3):

$$\Delta M = \left(\frac{m_i - m_0}{m_0}\right) \times 100 \% \tag{3}$$

- 715 gdzie:
- 716  $\Delta M$  ubytek masy [%];
- 717  $m_0$  masa początkowa [g];
- 718 m<sub>i</sub> masa po degradacji [g].
- 719

#### 720 Badanie kalcyfikacji

721 Badanie kalcyfikacji przeprowadzono w celu oceny odporności badanych 722 filamentów na wytrącanie się soli fosforanów wapnia. Do badania wykorzystano 723 roztwór Golomba - Wagnera, który składał się z 3,87 milimola (mM) CaCl<sub>2</sub>, 2,32 mM 724  $K_2$ HPO<sub>4</sub> (stosunek masowy jonów Ca/PO<sub>4</sub> = 1,67) i 0,05 M buforu Tris (w tym badaniu 725 C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>) rozpuszczonego w 1 ml wody dejonizowanej [196], [197]. Filamenty 726 pocięto na odcinki o długości ok. 1 cm i tak przygotowane próbki suszono i ważono 727 przy użyciu termowagi (RADWAG MAX50/SX) ustawionej na 60°C. Następnie po 728 3 próbki każdego badanego filamentu umieszczono w płytce testowej i zalano 5 ml 729 roztworu Golomba - Wagnera [192]. Postęp kalcyfikacji badano po 15 dniach od 730 rozpoczęcia badania. Wyrażony jest on zgodnie z wzorem (4):

$$\Delta M = \left(\frac{m_i - m_0}{m_0}\right) \times 100 \%$$
<sup>(4)</sup>

- 731 gdzie:
- 732  $\Delta M$  zmiana masy [%];
- 733  $m_0$  masa początkowa [g];
- 734 m<sub>i</sub> masa po kalcyfikacji [g].
- 735

# 736 Badanie możliwości wydruku otrzymanych filamentów

Przygotowane filamenty zostały przetestowane pod kątem drukowalności
za pomocą drukarki 3D FFF FlashForgeInventor I® (FlashForge, Jinhua, Chiny). Pliki





G-code zostały przygotowane przy użyciu oprogramowania FlashPrint (wersja 4.2.0)
(FlashForge, Jinhua, Chiny). Próby wydruku prowadzono z wykorzystaniem modelu
sześcianu o długości boku wynoszącym 2 cm. Zastosowano następujące parametry:
temperatura stołu roboczego: 50°C, bazowa prędkość druku: 30 mm/min, wysokość
warstwy: 0,18 mm, wypełnienie: 15%, liniowe,liczba obrysów: 3; warstwy zamykające:
3 górne i 3 dolne. Wykonano trzy próby dla każdego filamentu, różniące się między
sobą temperaturami głowicy drukującej: 210 °C, 220 °C i 230 °C [192].

## 746 Badanie właściwości antybakteryjnych

747 Aktywność przeciwbakteryjną filamentu zmodyfikowanego siarczanem (VI) 748 amikacyny oceniano wobec szczepów bakteryjnych E. coli, P. fluorescens, S. aureus 749 i S. epidermidis metoda krażkowo - dyfuzyjna. Szczepy bakteryjne pozyskano 750 z Katedry Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej. 751 Hodowle podstawowe utrzymywano przez okresowe przesiewanie na szalkach z agarem 752 odżywczym, które przechowywano w temperaturze 4°C. Przed każdym eksperymentem 753 szczepy bakteryjne były odświeżane przez hodowanie w pożywce Luria - Bertani (LB) 754 i inkubowane przez 24 godziny w temperaturze 37 °C. Pożywkę LB przygotowano 755 przez rozpuszczenie 10 g NaCl, 10 g peptonu i 5 g ekstraktu drożdżowego w 1 litrze 756 wody destylowanej, a następnie autoklawowanie (121 °C, 1,5 atm, 20 min) i schładzanie do temperatury pokojowej. Wszystkie odczynniki dostarczyła firma BTL 757 758 Sp. z o. o., Łódź, Polska. Następnie hodowle bakteryjne rozcieńczono dziesięciokrotnie 759 pożywką LB i 0,1 cm<sup>3</sup> zawiesiny bakteryjnej rozprowadzono na płytkach z agarem LB 760 i inkubowano w 37°C przez 24 godziny. Filamenty pocięto na odcinki o długości ok. 1 cm, sterylizowano 70% etanolem, a następnie umieszczono pod lampą UV na 30 min. 761 762 Następnie filmenty delikatnie umieszczono na płytkach agarowych za pomocą 763 pęsety. Płytki inkubowano w 37°C przez 24 godziny. Po inkubacji przeanalizowano 764 występowanie stref zahamowania wzrostu bakterii wokół próbek filamentów. 765 Aktywność antybakteryjną filamentów testowano w 5 powtórzeniach. Podczas testu 766 mikrobiologicznego na powierzchni każdej płytki agarowej umieszczano jedną próbkę 767 filamentu [192]. Analizę właściwości antybakteryjnych filamentów przeprowadzono we 768 współpracy z Katedrą Biologii Molekularnej i Biotechnologii Politechniki Gdańskiej.





769 Badanie profilu uwalniania siarczanu (VI) amikacyny ze zmodyfikowanych 770 filamentów (HPLC)

771 Roztwór podstawowy siarczanu (VI) amikacyny (1 mg/ml) przygotowano 772 w wodzie dejonizowanej i przechowywano w -3°C. Roztwory kalibracyjne (2,5, 5, 12,5, 773 25, 50, 75 µg/ml) przygotowano przez rozcieńczenie roztworu podstawowego woda 774 dejonizowaną. Próbki filamentów modyfikowanych siarczanem (VI) amikacyny, po 775 uprzednim wysuszeniu, zanurzono w 1,5 ml wody dejonizowanej w fiolkach 776 Eppendorfa i pozostawiono na określony czas: 2 min, 5 min, 30 min, 1 h, 3 h, 3 dni, 5 777 dni i 7 dni. Z każdego fi lamentu przygotowano po 3 próbki. Po określonych czasach 778 roztwory przeniesiono do fiolek chromatograficznych i analizowano.

779 Oznaczanie siarczanu (VI) amikacyny przeprowadzono metoda HPLC-MS/MS 780 w trybie monitorowania wielu reakcji (monitorowanie wielu reakcji - 586,4-163,2; 781 potencjał deklastrowania - 126 V; energia zderzeń - 47 V) przeprowadzono przy użyciu 782 systemu Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC (USA) składającego się z pompy 783 binarnej, autosamplera SL, termostatowanej kolumny i odgazowywacza. System był 784 sprzeżony z potrójnym kwadrupolowym spektrometrem mas Q-Trap 4000 (AB SCIEX, 785 USA) ze źródłem jonizacji elektrorozpylania (ESI) pracującym w trybie jonów 786 dodatnich. Inne parametry źródła ESI były następujące: ciśnienie gazu kurtynowego: 787 25 psi, temperatura źródła: 450 °C, ciśnienie gazu nebulizatora: 35 psi, ciśnienie gazu 788 grzejnego: 45 psi i napięcie kapilary wynoszące: 5000 V.

Całkowity przebieg pojedynczej analizy wynosił 4 min. Faza ruchoma składała
się z mieszaniny wody i metanolu (80:20 v/v) z 0,1% kwasem mrówkowym.
Zastosowano szybkość przepływu 0,3 ml/min, a objętość nastrzyku wynosiła 3 μl. Do
rozdziału użyto kolumny chromatograficznej AgilentEclipse Plus C18 3,5 μm
(4,6 x 100 mm). Temperaturę kolumny utrzymywano na poziomie 35°C [192].

Badanie HPLC przeprowadzono we współpracy z Katedrą Chemii Analitycznej
Politechniki Gdańskiej.





# 796 4.2.3. Matryce porowate typu B drukowane w technologii 3D FDM

#### 797 Badanie wielkości porów

798 Ocenę wielkości porów drukowanych matryc porowatych B przeprowadzono 799 przy użyciu mikroskopu cyfrowego, model avp028f8, certyfikowanego przez FC & CE 800 (Flood Control and Coastal Emergency) oraz RoHS (Restriction of Hazardous 801 Substances). Obrazy obserwowano przy powiększeniu 40x. Do rejestracji obrazów 802 mikroskopowych wykorzystano komputer stacjonarny z oprogramowaniem VidCap. Do 803 analizy obrazów mikroskopowych wykorzystano oprogramowanie ImageJ (Rasband, 804 W.S., ImageJ, U.S. NationalInstitutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 805 https://imagej.nih.gov/ij/, 1997-2021) [189].

## 806 Badanie wytrzymałości na rozciąganie

807 Badanie wytrzymałości na rozciąganie porowatych matryc poliuretanowych 808 przeprowadzono za pomoca uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick & Roell 809 Z020 na podstawie normy PN-EN ISO 527-1-3:1998, PN-EN ISO 527-4-5-2000 i PN-810 ISO 37:2007. W tym celu wydrukowano próbki o kształcie wiosełek, które 811 przedstawiono na **rysunku 4.1**. Badaniu poddano po trzy próbki reprezentujące matryce 812 o różnych wzorach wypełnienia: heksagonalnym, liniowym oraz trójkatnym. 813 W Tabeli 4.1 przedstawiono parametry badania. Badanie wytrzymałości na rozciąganie 814 przeprowadzono we współpracy z Panią mgr inż. Edytą Piłat z Katedry Technologii 815 Polimerów Politechniki Gdańskiej.



Parametry badania statycznego rozciągania wprowadzone do programu





| Softend górny                        | 1000 mm    |
|--------------------------------------|------------|
| Softend dolny                        | 723,392 mm |
| Odległość mocowania próbki           | 62,791 mm  |
| Siła wstępna                         | 0,5 MPa    |
| Prędkość badania                     | 300 mm/min |
| Długość pomiarowa standardowej drogi | 25 mm      |

# 821 4.2.4. Hydrożele typu B (Agar/PVA sieciowane boraksem)

822 Ocena homogeniczności warstw hydrożelowych przy pomocy mikroskopii optycznej

Morfologię hydrożeli obserwowano przy użyciu mikroskopu optycznego Delta Optical MET-1000 TRF (Delta Optical, Nowe Osiny, Polska) z kamerą MTR3CMOS20000KPASony imx183 (ToupTekPhotonicsSony Hangzhou, Chiny, Tokio, Japonia) przy powiększeniu x40 na uwodnionych próbkach hydrożeli. Do obserwacji użyto oprogramowania ToupView (Toup Tek Photonics, Hangzhou Zhejiang, Chiny). Obserwację prowadzono w temperaturze pokojowej.

829

#### 830 Badanie kinetyki pęcznienia

831 Do badania pęcznienia z każdego rodzaju zsyntetyzowanego hydrożelu wycięto 832 po trzy cylindryczne próbki o średnicy 12 mm i wysuszono w temperaturze 60°C do 833 uzyskania stałej masy (ubytek masy poniżej 1 mg/120 s), stosując wagosuszarkę MA 834 50.R (RADWAG, Radom, Polska). Następnie każdą z próbek umieszczano w 20 ml 835 wody o temperaturze 20°C, następnie wyjmowano z medium w ustalonych odstępach 836 czasu, kładziono na papierze w celu usunięcia nadmiaru wody i ważono na wadze 837 analitycznej AS 110. R2 (RADWAG, Radom, Polska). Wartości pęcznienia obliczono 838 za pomocą równania (5).

839

$$W = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100\%,$$
 (5) [90]

840 gdzie:

841 W – pęcznienie [%],

842  $m_t$  – masa spęczniałego hydrożelu w czasie (t) [g],





m<sub>0</sub>-masa suchego hydrożelu przed badaniem [g].

844

843

845 Krzywe pęcznienia dla każdego hydrożelu wykonano przy pomocy 846 oprogramowania OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northamption, USA). 847 Przedstawiono je w postaci zależności średnich wartości pecznienia z odchyleniem 848 standardowym od czasu (pomiary prowadzono z przyjęciem n = 3 próbki dla każdego 849 rodzaju hydrożelu). W celu analizy mechanizmu pęcznienia, wybrano kilka modeli 850 kinetycznych dopasowanych do danych eksperymentalnych (modele pierwszego 851 i drugiego rzędu oraz model Korsmeyera - Peppasa), używając oprogramowania 852 OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northamption, USA). Parametry pecznienia dla 853 różnych modeli matematycznych obliczono wykorzystując średnie wartości pecznienia 854 wraz z odchyleniami standardowymi (n=3) w funkcji czasu (t) dla każdego rodzaju hydrożelu. 855

856 W przypadku kinetyki pierwszego rzędu wartość pęcznienia w dowolnym 857 momencie (*t*) jest proporcjonalna do pochłonięcia środka spęczniającego przed 858 osiągnięciem pęcznienia równowagowego ( $W_{eq}$ ) [198]. Kinetykę pierwszego rzędu 859 reprezentuje równanie (6)

860

 $\frac{dW}{dt} = K_1 (W_{eq} - W_t), \tag{6} [198]$ 

861

862 gdzie:

863 W<sub>eq</sub>- pęcznienie równowagowe [%],

864 W – pęcznienie w czasie (t) [%],

865  $K_1$  – stała kinetyki pęcznienia pierwszego rzędu [min<sup>-1</sup>].

866

867 Równanie (2) po scałkowaniu przyjmuje formę równania (7):

868

$$W = W_{eq}(1 - e^{-K_1 t}), \qquad (7) [198]$$





870 Parametry pęcznienia obliczono również zgodnie z kinetyką drugiego rzędu z równania 871 (8): 872  $\frac{dW}{dt} = K_2 (W_{eq} - W_t)^2, \qquad (8) [199]$ 873 gdzie:

874 $W_{eq}$ - pęcznienie równowagowe [%],875t – czas [min],876W – pęcznienie w czasie (t) [%],877K<sub>2</sub> – stała kinetyki pęcznienia drugiego rzędu [%<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>].878879Przy założeniu, że  $W_0 = W = 0$  oraz  $t_0 = t = 0$ , równanie (8) po scałkowaniu może zostać

880 przekształcone do nieliniowego równania (9):

881

$$W = \frac{KW_{eq}^{2}t}{1 + KW_{eq}t},$$
 (9) [199]

Nieliniowy model dyfuzji Korsmeyera – Peppasa można zastosować w celu zbadania
mechanizmu sorpcji wody do matrycy hydrożelowej według równania (10) [200]:

$$W = K_K t^n,$$
 (10) [200]

885 gdzie:

886 W – stopień pęcznienia w czasie (t) [%],

- 887  $K_{\rm K}$  stała kinetyki pęcznienia modelu Korsmeyera Peppasa [min<sup>-1</sup>]
- 888 n wykładnik dyfuzji [-].
- 889

Byfuzja Ficka i transport Typu II są kontrolowane przez relaksację łańcuchów
polimerowych i są wyrażone przez wartości n równe odpowiednio 0,5 i 1.





893 Badanie gęstości ( $d_p$ ), średniej masy cząsteczkowej między węzłami sieci ( $M_c$ ) 894 i gęstości usieciowania ( $\rho_c$ )

Gęstość hydrożeli wyznaczono za pomocą wagi analitycznej AS 110.R2 z zestawem do pomiaru gęstości ciał stałych Density Kit 85 (RADWAG, Radom, Polska) na uwodnionych próbkach hydrożeli. Gęstość określono na podstawie różnicy mas próbek ważonych w powietrzu iw metanolu jako cieczy pomiarowej. Pomiary przeprowadzono w temperaturze pokojowej (20°C), dla trzech próbek z każdego rodzaju hydrożelu. W oparciu o średnią wartość gęstości, obliczono średnią masę cząsteczkową między węzłami sieci i gęstość usieciowania zgodnie z równaniem (11).

$$M_{c} = -\frac{d_{p}V_{s}(V_{2,s}^{\frac{1}{3}} - \frac{V_{2,s}}{2})}{\ln(1 - V_{2,s}) + V_{2,s} + \chi V_{2,s}^{2}},$$
(11) [93]

903

904 gdzie:

905  $M_c$  – średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci  $\left[\frac{g}{mai}\right]$ ,

906  $d_p$  – gęstość hydrożelu w stanie uwodnionym  $\left[\frac{g}{cm^3}\right]$ ,

907  $V_s$  – molowa frakcja wody [-],

908 V<sub>2,s</sub> – objętościowa frakcja polimeru w hydrożelu [-].

909

910 Objętościowa frakcja polimeru w hydrożelu (V<sub>2,s</sub>) może być wyznaczona
911 zgodnie równaniem (12):

$$V_{2,s} = \left[1 + \frac{d_p}{d_s} \left(\frac{M_a}{M_b} - 1\right)\right]^{-1},$$
(12) [93]

912 gdzie:

913  $d_p - gęstość uwodnionego hydrożelu \left[\frac{g}{cm^3}\right],$ 

914 
$$d_s - gęstość rozpuszczalnika \left[\frac{g}{cm^3}\right],$$

915 M<sub>a</sub> – masa uwodnionego hydrożelu [g],

916 M<sub>b</sub> – masa suchego hydrożelu [g].

917

918 Ponadto, χ jest parametrem oddziaływania rozpuszczalnika z siecią polimerową, który

919 można wyznaczyć na podstawie wartości V<sub>2,s</sub>, korzystając z równania (13):





$$\chi = \frac{\ln(1 - V_{2,s}) + V_{2,s}}{V_{2,s}^2}.$$
 (13) [93]

922 W celu obliczenia gęstości usieciowania zastosowano równanie (14):

923

$$q_{c} = \frac{1}{\tilde{v}M_{c}} = \frac{d_{p}}{M_{c}},$$
 (14) [93], [201]

924 gdzie:

925  $q_c$ - gęstość usieciowania  $\left[\frac{mol}{dm^3}\right]$ ,

926  $\tilde{\upsilon}$  – objętość właściwa hydrożelu w stanie uwodnionym  $\left[\frac{\mathrm{cm}^3}{\sigma}\right]$ ,

927  $d_p$ - gęstość uwodnionego hydrożelu  $\left[\frac{g}{cm^3}\right]$ ,

928  $M_c$  – średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci  $\left[\frac{g}{mol}\right]$ .

929

# 930 Badanie zawartości wody wolnej w hydrożelach

Badania zawartości wody przeprowadzono poprzez zważenie uwodnionych
i wysuszonych próbek hydrożelu na wadze analitycznej AS 110.R2 (RADWAG,
Radom, Polska). W tym celu z każdego rodzaju hydrożelu wycięto po trzy walcowate
próbki o średnicy 8 mm. Następnie, próbki suszono w temperaturze 60°C przy użyciu
wagosuszarki MA 50.R (RADWAG, Radom, Polska), aż do uzyskania stałej masy
(ubytek masy poniżej 1 mg/120 s). Pomiary odbywały się w temperaturze pokojowej.
Zawartość wody w hydrożelach H [%] obliczono według równania (15).

938

$$H = \frac{m_1 - m_0}{m_1} \times 100\%, \qquad (15) [202]$$

939 gdzie:

940 H – zawartość wody wolnej [%],

941  $m_0$ - masa początkowa uwodnionego hydrożelu [g],

942 m<sub>1</sub>- masa wysuszonego hydrożelu [g].

943 Badanie struktury chemicznej hydrożeli (FTIR)

944 Spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera uzyskano za pomocą
945 spektrometru Nicolet 8700 (ThermoFisher, Waltham, USA) w zakresie 4000-500 cm<sup>-1</sup>
946 z rozdzielczością 4 cm<sup>-1</sup> i 128 skanów na próbkę w temperaturze pokojowej.





947 Wyposażenie urządzenia stanowiła także przystawka ATR (ang. Attenuated Total
948 *Reflectance*) GoldenGate firmy Specac. Badanie przeprowadzono dla wysuszonych
949 próbek otrzymanych hydrożeli.

950 Badanie kąta zwilżania, energii powierzchniowej i pracy adhezji

951 Do pomiaru kata zwilżania próbek uwodnionych hydrożeli zastosowano 952 goniometr Rame-Hart 90-U3-PRO (Rame-Hart, Succasunna, USA) 953 z oprogramowaniem Drop Image Pro (Media Cybernetics, Rockville, USA). Jako ciecz 954 pomiarowa wykorzystano dijodometan (Sigma-Aldrich Saint Louis, USA). Pomiary 955 wykonano w temperaturze pokojowej. Badania kata zwilżania przeprowadzono we 956 współpracy z Pania mgr inż. Edyta Piłat z Katedry Technologii Polimerów Politechniki 957 Gdańskiej.

#### 958 Badanie właściwości antybakteryjnych hydrożeli

Badanie właściwości przeciwbakteryjnych przeprowadzono z wykorzystaniem
płynnych hodowli szczepów bakterii *S. epidermidis* i *E. coli*, które są przyczyną wielu
zakażeń szpitalnych, takich jak zakażenia rozległych ran czy zakażenia pooperacyjne
[203]. Do testu wykorzystano *S. epidermidis* (szczep ATCC 35984) i *E. coli* (szczep
ATCC 25922), które są podatne na działanie siarczanu (VI) amikacyny. Badanie
przeprowadzono zgodnie z metodą opisaną szczegółowo poniżej.

965 W celu zbadania aktywności przeciwbakteryjnej wybranych hydrożelowych 966 (AG/0.8PVA/0.8BOR i AG/0.8PVP/0.8BOR) materiałów kontrolnych oraz 967 odpowiadających im materiałów hydrożelowych modyfikowanych 0,072 % wag. 968 siarczanu (VI) amikacyny (AG/0.8PVA/0.8BOR/AM i AG/0.8PVP/0.8BOR/AM) 969 wobec S. epidermidis (szczep ATCC 35984) i E. coli (szczep ATCC 25922), z każdego 970 z nich wycięto 6 prostokatnych próbek o wymiarach  $2 \times 1$  cm. Następnie pobrano 971 kolonię każdego testowanego szczepu z odseparowanych szalek Petriego 1 972 i przeniesiono do 1 ml świeżej, sterylnej pożywki Luria-Bertani (LB) (Sigma-Aldrich) 973 przy użyciu sterylnej ezy. Probówki z umieszczono następnie w wytrząsarce 974 z inkubatorem powietrznym Innova 42 (New Brunswick), gdzie wytrząsano je przez 16 godzin w 37°C przy 150 RPM. Po 16 godzinach hodowli, 0,75 ml każdej hodowli 975 bakteryjnej przeniesiono oddzielnie do 280 ml świeżej pożywki LB w kolbie 976





977 Erlenmeyer'a. Następnie oba szczepy bakteryjne hodowano w identycznych warunkach
978 jak przedstawiono powyżej w wytrząsarce z inkubatorem powietrznym (New
979 BrunswickInnova 42, Eppendorf), aż oba szczepy osiągnęły gęstość optyczną hodowli
980 OD<sub>600</sub> w zakresie 0,3-0,4.

981 W nastepnym kroku 10 ml hodowli S. epidermidis (szczep ATCC 35984) lub 982 E. coli (szczep ATCC 25922) przeniesiono do 27 sterylnych probówek Falcon (50 ml). 983 W kolejnym kroku do 24 probówek dodano po 6 próbek każdego z 4 rodzajów 984 badanych materiałów hydrożelowych (2 niemodyfikowane i 2 modyfikowane 985 siarczanem amikacyny). Do pozostałych 3 z 27 probówek nie dodano żadnych 986 hydrożelowych. Stanowiły one kontrole materiałów wzrostu odpowiednio 987 dla S. epidermidis (szczep ATCC 35984) lub E. coli (szczep ATCC 25922). Następnie 988 hodowle przeniesiono do inkubatora powietrznego Innova 42 (New Brunswick) na 16h 989 w 37°C przy 150 RPM. Po inkubacji dokonano spektrofotometrycznego pomiaru 990 Basic. wartości  $OD_{600}$ (Biospectrometer Eppendorf). Badanie aktvwności 991 antybakteryjnej hydrożeli przeprowadzono we współpracy z Katedrą Biotechnologii 992 Molekularnej i Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej.

993 Badanie uwalniania siarczanu (VI) amikacyny z hydrożeli w warunkach in vitro994 (HPLC)

W celu przeprowadzenia badania czasowego uwalniania siarczanu (VI)
amikacyny z wykonanych hydrożeli wykorzystano nastepujące odczynniki: disiarczan
amikacyny (AMI) (Interquim, CAS 39831–55-5), woda dejonizowana (HLP5 system;
Hydrolab), metanol (MeOH) (cz. do HPLC; VWR), kwas nonafluoropentanowy
(NFPA) (Apollo Scientific).

1000 Próbki do badań porzygotowano w następujący sposób: w 10 ml  $H_2O$ 1001 destylowanej umieszczano 0,2 g hydrożelu, a następnie po upływie określonego czasu 1002 pobierano 1 ml próbki przekazanej do dalszych badań, a układ z hydrożelem 1003 uzupełniano świeżą porcją 1 ml  $H_2O$  destylowanej. Przygotowane próbki wykonane 1004 zostały w 3 powtórzeniach.

1005 Oznaczenia stężenia siarczanu (VI) amikacyny w roztworach dokonywano przy
1006 pomocy chromatografu cieczowego Agilent 1200LC, wyposażonego w degazer, pompę,
1007 autosampler, termostat oraz detektor ELSD 1260 Infinity II.





W celu dokonania kalibracji przygotowano wodny roztwór siarczanu (VI)
amikacyny (AMI) o stężeniu 1 mg/ml. Następnie, poprzez rozcieńczanie wodą
dejonizowaną, przygotowano w kolbach miarowych serię 5 roztworów kalibracyjnych
w zakresie od 2 μg/ml do 50 μg/ml.

1012 Zawartość uwolnionej AMI określono jako "skumulowane uwalnianie" 1013 (CR, ang. *cumulative release*), liczone jako stosunek ilości uwolnionej AMI [mg] po 1014 określonym czasie do masy polimerowego materiału [g], użytego w badaniu (zgodnie 1015 z równaniem 15).

$$CR = \frac{CR_t}{M},\tag{15} [202]$$

1016 gdzie:  $CR_t$  – ilość AMI, uwolniona z polimerowego nośnika w czasie t [mg]; M – masa 1017 materiału polimerowego wzięta do badania.

1018 Ilość uwolnionej AMI oznaczano z wykorzystaniem chromatografii tworzenia
1019 par jonowych (ang. *Ion-pairing Liquid Chromatography*, IPLC) oraz detekcji
1020 rozproszenia światła laserowego (ELSD, ang. *evaporative light scattering detector*).
1021 Warunki chromatograficzne zestawiono w **Tabeli 4.2**.

1022 **Tabela 4.2**. Warunki chromatograficzne.

| Kolumna chromatograficzna              | Zorbax RX C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm)           |  |  |
|--|--|--|--|
| Eluent A                               | $H_2O + 0.1\%$ NFPA                          |  |  |
| Eluent B                               | MeOH + 0,1% NFPA                             |  |  |
| Program aluaii                         | $0 \min - 55\% B$                            |  |  |
| r rogram encji                         | 8 min – 80% B                                |  |  |
| Natężenie przepływu fazy ruchomej      | 0,75 ml/min                                  |  |  |
| Objętość nastrzyku                     | 50 µl  |  |  |
| Temperatura kolumny chromatograficznej | 60°C   |  |  |
|  | temperatura parownika: 50°C; temperatura     |  |  |
| Parametry pracy detektora ELSD         | rozpylacza: 90°C; natężenie przepływu azotu: |  |  |
|  | 1,2 SLM; wzmocnienie: 2,2                    |  |  |





1024 W Tabeli 4.3 przedstawiono skład poszczególnych próbek hydrożeli
1025 z uwzględnieniem % wagowych. Masy przygotowywanych próbek wynosiły 100g.
1026

1027 **Tabela 4.3.** Skład matryc hydrożelowych B zmodyfikowanych siarczanem (VI) amikacyny

| Próbka | Woda [%] | Agar [%] | PVA [%] | Tetraboran sodu [%] | AMI [%] |
|--------|----------|----------|---------|---------------------|---------|
| HB_1   | HB_1     | 97,5     | 0,8     | 0                   | 0,1     |
| HB_2   | HB_2     | 97,4     | 0,8     | 0                   | 0,2     |

1028 Badania HPLC przeprowadzono we współpracy z Katedrą Chemii Analitycznej
1029 Politechniki Gdańskiej.

1030 4.2.5. Warstwa absorpcyjna typu B (matryca drukowana w 3D FDM pokryta
1031 hydrożelem B)

#### 1032 Badanie cytotoksyczności i proliferacji

1033 Cytotoksyczność warstw absorpcyjnych wobec ludzkich komórek skóry 1034 (keranocyty HaCaT, firboblasty 46BR.1N oraz fibroblasty pierwotne) oraz wobec 1035 komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASCs) oceniono przy pomocy testu LDH. 1036 Zbadano także wpływ opatrunków na proliferacje tych komórek przy pomocy testu 1037 XTT. Opatrunki umieszczono na płytce 6 – dołkowej, do każdego dołka dodano 3,3 ml 1038 pożywki DMEM i inkubowano przez 24 h w temperaturze 37 °C. Następnie tak 1039 przygotowany ekstrakt zbierano, wirowano i stymulowano nim komórki (48 h 1040 inkubacji, standardowe warunki, stymulacja ekstraktem o steżeniach 100%, 75%, 50% 1041 i 25%). Dobrano metodę ekstraktów zgodną z normą ISO 10993-5, dopuszczoną 1042 w testowaniu biomateriałów. Badania przeprowadzono we wpółpracy z Pania dr 1043 Mileną Deptułą z Zakładu Embriologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

1044 Ocena wpływu opatrunków na migrację komórek skórnych i macierzystych

1045 Wpływ opatrunków hybrydowych na migrację komórek skóry (keranocyty 1046 HaCaT, firboblasty 46BR.1N oraz fibroblasty pierwotne) oraz komórek macierzystych 1047 tkanki tłuszczowej (ASCs) oceniono przy pomocy insertów do migracji. Opatrunki 1048 umieszczono na płytce 6 – dołkowej, do każdego dołka dodano 3,3 ml pożywki DMEM 1049 i inkubowano przez 24 h w temperaturze 37 °C. Następnie tak przygotowany ekstrakt 1050 zbierano, wirowano i stymulowano nim komórki, w których przez dodanie mitomycyny





1051 C zablokowano proliferację (24 h inkubacji, standardowe warunki, stymulacja
1052 ekstraktem o stężeniach 100% i 50%). Dobrano metodę ekstratków zgodną z normą ISO
1053 10993-5. Po inkubacji komórki płukano, nastepmnie utrwalano 4% paraformaldehydem
1054 i barwiono fioletem krystalicznym o stężeniu 0,05%. Wybarwione komórki
1055 fotografowano i mierzono pole powierzchni rysy przy pomocy oprogramowania
1056 GRYPHAX. Badania przeprowadzono we wpółpracy z Panią dr Mileną Deptułą
1057 z Zakładu Embriologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.





# 1059 5. Wyniki badań

- 1060 5.1. Warstwa absorpcyjna typu A
- 1061 5.1.1. Porowate matryce typu A (SC/PL)
- 1062 Badanie wielkości porów i porowatości

1063 Obrazy mikroskopowe matryc porowatych A (CPMs) przedstawiono 1064 na **Rys. 5.1**. Otrzymane CPM charakteryzowały się średnią porowatością w zakresie od 1065 69 do 81%. Szczegółowo dla próbek PUR/10PLA, PUR/20PLA i PUR/30PLA 1066 porowatość została określona następująco: odpowiednio 69,22  $\pm$  2,01%, 73,06  $\pm$  2,33% 1067 i 72,03  $\pm$  2,04% (**Rys. 5.2**). Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA potwierdziła, 1068 że wartości te nie różniły się statystycznie ( $\alpha = 0,05$ ).



| 1070 |   |
|------|---|
| 1071 | Rys. 5.1. Mikroskopia optyczna matryc porowatyc A (CPMs): a) PUR/10PVA, |
| 1072 | b) PUR/20PVA, c) PUR/30PVA, d) PUR/10PLA, e) PUR/20PLA, f) PUR/30PLA    |
| 1073 | (powiększenie 800x).  |
| 1074 |   |
|      |   |







1076 **Rys. 5.2.** Średnia porowatość (± odchylenie standardowe) otrzymanych matryc porowatych A

1077 (CPMs) (n = 10).

1078

1075



1079

1080Rys. 5.3. Średni rozmiar porów ( $\pm$  odchylenie standardowe) oraz zakresy wielkości porów1081otrzymanych matryc porowatych A (CPMs) (n = 10).

1082 We wszystkich przypadkach uzyskano CPMs o porach sferycznych tworzących 1083 system otwarty (występowanie połączeń pomiędzy porami). Dla próbek PUR/10PVA, 1084 PUR/20PVA i PUR/30PVA otrzymana porowatość była nieco wyższa (odpowiednio 1085  $73,25 \pm 0,59\%$ ,  $76,21 \pm 0,46\%$  i  $81,01 \pm 1,61\%$ , **Rys. 5.2**) w porównaniu z CPMs





1086 uzyskanymi przy użyciu składu PUR/PLA. Jednoczynnikowa analiza statystyczna 1087 ANOVA wykazała, że średnie wartości porowatości dla PUR/10PVA i PUR/20PVA nie 1088 różniły się statystycznie ( $\alpha = 0.05$ ). Test Tukeya wykazał natomiast, że porowatość dla 1089 PUR/30PVA była istotnie wyższa niż dla PUR/10PVA i PUR/20PVA ( $\alpha = 0.05$ ). 1090 W porównaniu z poliuretaowymi opatrunkami piankowymi, które charakteryzuja sie 1091 najczęściej porowatościa w zakresie od 78 do 95% (średnio 87%) [131], wyłącznie 1092 warstwy bazujące na kompozycji PUR/30PVA osiągnęły zadowalający stopień 1093 porowatości (81,01  $\pm$  1,61%). Warto jednak dodać, że pozostałe badane warstwy 1094 wykazywały porowatości tylko nieznacznie niższe od 78%. Można uznać, że rodzaj 1095 dodawanego składnika w kompozycie, w tym przypadku PLA lub PVA, wpływa 1096 na porowatość otrzymanych kompozytów. Wyższa porowatość CPMs wytworzonych z kompozycji PUR/PVA może wynikać z samego procesu ich wytwarzania, w którvm 1097 1098 porogen wymywany jest przy pomocy wody, a PVA w przeciwieństwie do PLA, jest 1099 polimerem rozpuszczalnym w wodzie [58], [181], [204].Rozwiną krótka dyskusję 1100 chyba w podsumowaniu

1101 Próbki PUR/PVA charakteryzowały się porowatością wyższą średnio o 5% 1102 w porównaniu z próbkami PUR/PLA, a więc należy się spodziewac, że te warstwy 1103 absorpcyjne powinny charakteryzować się wyższą przepuszczalnością i chłonnością 1104 wysięku. Zgodnie z A. Gefen'em wyskoki stopień porowatości, obok dużej ilości 1105 wzajemnych połączeń między porami, jest kluczowym parametrem warunkującym 1106 wysoką chłonność wysięku [137].

1107 Analiza komputerowa obrazów CPMs (**Rys. 5.3**) wykazała, że dla warstw 1108 wytworzonych z kompozycji PUR/PLA średnie wartości wielkości porów maleją wraz 1109 ze wzrostem ilości PLA w kompozycji. Matryca PUR/10PLA charakteryzowała się 1110 wysokimi średnimi wielkościami porów wynoszącymi 123  $\pm$  10 µm (**Rys. 5.3**). Wartość 1111 ta była nieco wyższa od średniej wielkości porów obliczonej dla matryc PUR/20PLA 1112 i PUR/30PLA, która wyniosła odpowiednio 93  $\pm$  10 µm i 68  $\pm$  5 µm ( $\alpha$  = 0,05).

1113 Dla próbek PUR/10PVA, PUR/20PVA i PUR/30PVA średnie rozmiary porów 1114 rosły proporcjonalnie do ilości PVA w kompozycji: odpowiednio  $88 \pm 9 \,\mu\text{m}$ ,  $98 \pm 9 \,\mu\text{m}$ 1115 i  $103 \pm 20$  59,72  $\mu\text{m}$  ( $\alpha = 0,05$ ). Podsumowując, dodatek PLA powoduje zmniejszanie 1116 się rozmiaru średnich wielkości porów wraz ze wzrostem jego ilości, natomiast rosnący 1117 dodatek PVA zwiększa średnią wielkość porów. Warto w tym miejscu przypomnieć,





że warstwa PUR/30PVA wykazuje również najwyższy stopień porowatości (81,01 ± 1,61%). Można więc stwierdzić, że pod kątem chłonności wysięku najbardziej
obiecujące wyniki uzyskano dla warstw absorpcyjnych z wysoką zawartością PVA
(PUR/30PVA). Ponadto, badania prowadzone przez Lee i współpracowników [128]
wykazały, że wielkości porów powierzchniowych dla niektórych piankowych
opatrunków wynoszą:

1124

•  $25 - 75 \ \mu m$  (średnio 69,2  $\mu m$ ) dla Mepilex ® Silver,

1125 •  $70 - 90 \ \mu m$  (średnio 78,6  $\mu m$ ) dla Allevyn ® Ag,

- 100 250 μm (średnio 150,8 μm) dla Mepilex ® Ag,
- 130 250 μm (średnio 195,0 μm) dla Polymem ® Silver.

1128 Zatem wszystkie wytworzone warstwy absorpcyjne A (CPMs) charakteryzują się
1129 zakresem wielkości porów typowym dla już stosowanych handlowo opatrunków
1130 piankowych.

Warto dodać, że we wspomnianych badaniach Lee [128] wielkości porów
testowanych opatrunków piankowych wpływały istotnie na szybkość wchłaniania,
maksymalną objętośc absorpcji i retencję wobec wody destylowanej. W tym przypadku,
najkorzystniejsze parametry pod kątem wchłaniania wysięku wykazywał Mepilex ®
Silver o najmniejszej wielkości porów (25 – 75 µm). Należy jednak zaznaczyć, że pod
kątem działania antybakteryjnego, wielkości porów nie miały istotnego wpływu
na skuteczność badanych opatrunków wobec szczepów *P. aeruginosa* oraz *S. aureus*.

1138 Na podstawie badań własnych dotyczących porowatości, wielkości i połączeń 1139 porów, CPMs i porównania ich z danymi dostępnymi w literaturze, można podejrzewać, 1140 że CPMs wytworzone z obu rodzajów kompozycji (PUR/PLA i PUR/PVA) będą 1141 skutecznie pełnić funkcję jednej ze składowych warstwy absorpocyjnej hybrydowego 1142 opatrunku.

1143

## 1144 Badanie degradacji krótkoterminoweji długoterminowej

1145 **Rys. 5.4** i **Rys. 5.5** przedstawiają utratę masy otrzymanych matryc porowatych 1146 A (CPMs), obliczoną po ocenie krótkoterminowej degradacji odpowiednio 1147 w środowisku kwaśnym (2M HCl) i zasadowym (5M NaOH). Zaobserwowano, 1148 że w środowisku alkalicznym wszystkie badane próbki charakteryzowały się wyższym





1149 średnim ubytkiem masy niż w środowisku kwaśnym. W środowisku alkalicznym tempo 1150 degradacji było o około 13% i 19% wieksze niż w środowisku kwaśnym odpowiednio 1151 po 7 i 14 dniu ( $\alpha = 0.05$ ). Na przykład po 14 dniu degradacji PUR/10PVA wykazało 1152 odpowiednio  $49.58 \pm 4.29\%$  i  $69.08 \pm 4.47\%$  ubytek masy w HCl i NaOH. Zgodnie 1153 z literatura, poliestrouretany sa o wiele bardziej podatne na degradacje hydrolityczna od 1154 polieterouretanów [205]. Chan - Chan i współpracownicy [205] wykazali, że dwa różne 1155 poliestrouretany bazujące na PCL i HMDI i różniące się przedłużaczem łańcucha (BSPU1 - przedłużacz BDO, BSPU2 - przedłużacz DTE), wykazują rózne stopnie 1156 1157 degradacji w środowisku alkalicznym i kwaśnym w w zależności od stopnia ich 1158 separacji mikrofazowej i krystaliczności. BSPU1 o niższym stopniu krystaliczności 1159 i separacji mikrofazowej po 24 h degradował bardziej w warunkach zasadowych (82,7%) od BSPU2 o wyższym stopniu krystaliczności i wyraźnym rozdziale 1160 1161 mikrofazowym (52,6%). Z kolei w warunkach kwaśnych to BSPU2 był bardziej 1162 podatny na degradację (87,2%) w odniesieniu do materiału BSPU1 (63,4%). Można 1163 więc zakładać, że za różnice w degradacji zasadowej i kwasowej badanych matryc 1164 porowatych typu A (w których głównym składnikiem jest poliestrouretan) odpowiada 1165 jego stopień krystaliczności i separacja fazowa).

1166 Ponadto dwuczynnikowa analiza ANOVA wykazała, że zarówno w środowisku kwaśnym, jak i zasadowym rodzaj kompozytu na bazie PLA lub PVA miał silny wpływ 1167 1168 na wyniki ubytku masy ( $\alpha = 0.05$ ). Uzyskane wyniki oraz dwuczynnikowa analiza 1169 ANOVA wykazały, że dla CPM otrzymanego z użyciem PVA (PUR/10PVA, 1170 PUR/20PVA i PUR/30PVA) ubytek masy był istotnie większy niż dla CPMs wykonanych z użyciem PUR w połaczeniu z PLA: PUR/10PLA, PUR/20PLA 1171 1172 i PUR/30PLA ( $\alpha = 0.05$ ) zarówno dla mediów kwaśnych, jak i zasadowych. Dla 1173 przykładu po 14 dniu oceny w HCl ubytek masy PUR/20PLA wyniósł  $26,01 \pm 4,78\%$ , 1174 a dla PUR/20PVA 50,89 ± 6,03%.

1175 Na **Rys 5.6** przedstawiono wyniki ubytków masy otrzymanych CPMs 1176 w roztworze imitującym płyny fizjologiczne (0,01 M PBS). Największą degradację po 1177 56 dniach zaobserwowano dla PUR/30PVA (24,55 ± 1,88%), a najniższą dla 1178 PUR/10PLA (12,00 ± 0,57%). Dwuczynnikowa analiza ANOVA wykazała, że zarówno 1179 rodzaj kompozytu (PLA lub PVA), jak i stężenie dodatku (PLA lub PVA) miały 1180 znaczący wpływ na wyniki ubytku masy w 14. i 56. dniu ( $\alpha = 0,05$ ). Średnio CPMs





1181 bazujące na kompozycjach PUR/PVA degradują w większym stopniu niż te, które

- 1182 wytworzono na podstawie składów PUR/PLA. Prawdopodobną przyczyną takiego stanu
- rzeczy jest wodnorozpuszczalny charakter PVA. 1183



# 1184

1185 Rys. 5.4. Średni ubytek masy matryc porowatych A (CPMs) w odniesieniu do składu

1186 kompozycji PUR i PLA w 2M HCl (\*róznica istotna statystycznie:  $\alpha = 0.05$ , n = 3).



1188 Rys. 5.5. Średni ubytek masy matryc porowatych A (CPMs) w odniesieniu do składu 1189 kompozycji PUR/PLA lub PUR/PVA w 5M NaOH (\*róznica istotna statystycznie: 1190  $\alpha = 0,05, n = 3$ ).









1192 Rys. 5.6. Średnia utrata masy CPMs w odniesieniu do składu kompozycji PUR/PLA lub
 1193 PUR/PVA w 0,01 M PBS.

1196 Badanie struktury chemicznej przy pomocy spektroskopii w podczerwieni
1197 z transformacją Fouriera (FTIR)

1198 Widma FTIR PVA i UnMHs: H1 – H3 przedstawiono na Rys. 5.7. Szczegółowe
1199 opisy pasm absorpcji podano w Tabeli 5.1.

<sup>1195 5.1.2.</sup> Hydrożele A (PVA sieciowany boraksem)







1201 **Rys. 5.7.** Widmo FTIR dla PVA oraz hydrożeli niezmodyfikowanych cyprofloksacyny

1202 (UnMHs: H1- hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 1:1 (wag./wag.), H2 -

1203 hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 2:1 (wag./wag.) , H3 - Hydrożel z roztworów

- 1204 PVA i boraksu w proporcji 3:1 (wag./wag.))
- 1205

1206 Tabela 5.1. Szczegółowy opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją
1207 Fouriera (FTIR) przedstawionych na Rys. 5.7 (PVA i UnMH).

| Liczba falowa [cm <sup>-1</sup> ] | Opis pasma absorpcji   |  |  |  |  |  |  |
|-----------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|
| 3600-3100                         | v(O-H) drgania rozciągające od grup hydroksylowych PVA i             |  |  |  |  |  |  |
| 5000-5100                         | hydrożeli H1, H2, H3   |  |  |  |  |  |  |
| 2930                              | $\nu$ (C-H) symetryczne drgania rozciągające od grup CH <sub>2</sub> |  |  |  |  |  |  |
| 2850                              | v(C-H) asymetryczne drgania rozciągające od grup $CH_2$              |  |  |  |  |  |  |
| 1740                              | v(C=O) drgania rozciągające od grupacetylowych                       |  |  |  |  |  |  |
| 1500-1300                         | Drgania deformacyjne $\delta$ (C-H) od grup CH <sub>2</sub>          |  |  |  |  |  |  |
| 1290                              | v(B-O-C) drgania rozciągające hydrożeli H1, H2 i H3                  |  |  |  |  |  |  |
| 1250                              | v(C-O) drgania rozciągające od grup acetylowych                      |  |  |  |  |  |  |
| 1130                              | v(B-O-C) drgania rozciągające hydrożeli H1, H2 i H3                  |  |  |  |  |  |  |
| 1100                              | v(C-O) drgania rozciągające od wiązań C-O-H                          |  |  |  |  |  |  |





| 1100-1000 | Wibracje szkieletowe y(C-C) z łańcuchów PVA |
|-----------|---|
| 700       | Wibracje deformacyjne δ(O-H) odwiązań C-O-H |

Szerokie pasmo odnotowane przy 3600-3100 cm<sup>-1</sup> zostało opisane jako drgania 1209 1210 rozciągające wiązań O-H cząsteczek PVA obecnych w UnMH, otrzymanych przez 1211 sieciowanie PVA boraksem w różnych proporcjach (3:1, 2:1 i 1:1 w/w). W obrębie grup hydroksylowych obserwowanych w zakresie 3600-3100 cm-1 zidentyfikowano aniony 1212 boraksu [206]. Pasma absorpcji przy 2930 i 2850 cm<sup>-1</sup> były związane z asymetrycznymi 1213 i symetrycznymi drganiami rozciągającymi wiązań CH grup CH<sub>2</sub> obecnych 1214 1215 w strukturze liniowej PVA [207] i otrzymanych UnMHs. Pik przy 1740 cm<sup>-1</sup> jest charakterystyczny dla grup octowych pochodzących z częściowej hydrolizy polioctanu 1216 1217 winylu do poli(alkoholu winylowego) [208]. Przy liczbie falowej ok. 1500-1300 cm<sup>-1</sup> 1218 można zaobserwować pasma deformacji wiązań C-H grup CH2 znajdujących się w łańcuchach PVA i otrzymanych niezmodyfikowanych hydrożeli [208]. Pasma przy 1219 1250 i 1100 cm<sup>-1</sup> były drganiami rozciągającymi C-O grup octowych i grup 1220 1221 hydroksylowych w PVA [208] i zanikały one w przypadku UnMHs. Piki występujące przy 1290 i 1130 cm<sup>-1</sup> sa charakterystyczne dla drgań rozciagających grup B-O-C 1222 1223 i potwierdzają powstawanie wiązań kowalencyjnych między łańcuchami PVA 1224 a anionami boraksu [208]. Intensywność wspomnianych pasm wzrasta wraz ze 1225 wzrostem ilości boraksu w hydrożelowych kompozycjach.

Widma FTIR chlorowodorku cyprofloksacyny oraz hydrożeli zmodyfikowanych
chlorowodorkiem cyprofloksacyny (CLHs: H4 – H6) przedstawiono na **Rys. 5.8**. Opisy
pasm dla Cipro podano w **Tabeli 5.2**.







Rys. 5.8. Widma FTIR hydrożeli zmodyfikowanych cyprofloksacyny (CMHs: H4 – hydrożel
sporządzony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w
stosunku 1:1 (wag./wag.), H5 – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA
zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 2:1 (wag./wag.), H6 – hydrożel złożony z roztworu
4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.))
oraz substancji aktywnej - cyprofloksacyny.

**Tabela 5.2.** Opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)

| Liczba falowa [cm <sup>-1</sup> ] | Opis pasma absorpcji                         |               |                   |                   |                    |
|-----------------------------------|--|---------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 3500-3368                         | ν(О-Н)                                       | drgania       | rozciągające      | odgrup            | hydroksylowych,    |
|                                   | wewnątrz                                     | cząsteczko    | we wiązania woć   | lorowe            |                    |
| 3035-3011                         | v(C-H) i v                                   | v(Ar-H) z a   | romatycznych cy   | klicznych e       | enów               |
| 2927, 2907                        | v(C-H) as                                    | symetryczn    | e i symetryczne   | drgania ro        | zciągające od grup |
|                                   | $CH_2$                                       |               |                   |                   |                    |
| 2697-2457                         | v(>C=O)                                      | iν(>N-<)      | drgania rozciągaj | iące od CO        | OH i N-wiązania    |
| 1702                              | v(C=O) d                                     | rgania rozc   | iągające od karbo | onylu             |                    |
| 1625-1603                         | Chinoliny                                    | v, drgania zg | ginające δ(N-H).  |                   |                    |
| 1556                              | Drgania d                                    | leformacyjr   | ne δ(C-H) od gru  | p CH <sub>2</sub> |                    |
| 1494-1386                         | v(C-O) di                                    | gania rozci   | ągające od grup   | karbonylow        | <i>r</i> ych       |
| 1333-1211                         | δ(O-H) drgania zginające grup hydroksylowych |               |                   |                   |                    |

1238 przedstawionych na **Rys. 5.8** (Cipro).





| 1050-1033  | v(C-F) drgania rozciągające wiązania C-F, grupa fluorowa                         |  |  |  |
|--|--|--|--|--|
| <b>Tabela 5.3.</b> Opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) przedstawionych na <b>Rys. 5.8</b> (CLHs, H4 - H6). |  |  |  |  |
| Liczba falowa [cm <sup>-1</sup> ]  | Opis pasma absorpcji   |  |  |  |
| 3615-3001  | v(O-H) drgania rozciągające od grup hydroksylowych PVA<br>i hydrożeli H1, H2, H3 |  |  |  |
| 2923   | $\nu$ (C-H) symetryczne drgania rozciągające z grup CH <sub>2</sub>              |  |  |  |
| 2848   | v(C-H) asymetryczne drganiar ozciągające z grup $CH_2$                           |  |  |  |
| 1727   | v(C=O) drgania rozciągające od grup acetylowych                                  |  |  |  |
| 1674-1627  | Chinoliny, drganiazginające δ(N-H).  |  |  |  |
| 1333   | v(B-O-C) drgania rozciągające hydrożeli H1, H2 i H3                              |  |  |  |
| 1274   | v(C-O) drgania rozciągające od grup acetylowych                                  |  |  |  |
| 1180   | v(B-O-C) drgania rozciągające hydrożeli H1, H2 i H3                              |  |  |  |
| 1106   | v(C-O) drgania rozciągające od wiązań C-O-H                                      |  |  |  |
| 1025-950   | Drgania szkieletowe $\gamma$ (C-C) od łańcuchów PVA                              |  |  |  |
| 823, 770   | Drgania deformacyjne δ(O-H) od wiązań C-O-H                                      |  |  |  |

1243 Wyraźny i charakterystyczny pik dla Cipro został zidentyfikowany między 3500-3368 cm<sup>-1</sup>. Jest on przypisany do drgań rozciagających O-H (miedzyczasteczkowe 1244  $3035-3011 \text{ cm}^{-1}$ 1245 wiazania wodorowe). Zaobserwowane pasmo w zakresie reprezentowało alkeny i rozciąganie aromatyczne C-H, związane z drganiami 1246 rozciagajacymi struktur aromatycznych. Pasma przy 2927 cm<sup>-1</sup> i 2907 cm<sup>-1</sup> opisano jako 1247 asymetryczne i symetryczne drgania rozciągające pochodzące z grup CH<sub>2</sub>. W zakresie 1248 2697-2457 cm<sup>-1</sup> zidentyfikowano drgania rozciągające C=O i >N- pochodzące 1249 od COOH i N-wiązania. Pasmo przy 1702 cm<sup>-1</sup> wykazało drgania rozciągające 1250 karbonylu w cząsteczce Cipro. Zakres 1625-1603 cm<sup>-1</sup> przedstawia drgania zginające 1251 N-H chinolin. Przy 1556 cm<sup>-1</sup> zaobserwowano drgania deformacyjne C-H z grup CH<sub>2</sub>. 1252 Zakres 1494-1386 cm<sup>-1</sup> reprezentował drgania rozciągające C-O od grup 1253 karbonylowych i karboksylowych. W zakresie od 1333 do 1211 cm<sup>-1</sup> zaobserwowano 1254 1255 drgania zginające grup hydroksylowych.

1256 Analiza widm FTIR CLHs (**Rys. 5.8**) w zakresie 1050-1033 cm<sup>-1</sup> nie ujawniła
1257 dużych różnic w pasmach (**Tabela 5.3**) w porównaniu z niemodyfikowanymi





1258 hydrożelami (UnMHs). Pasma obserwowane w zakresie 1674-1627 cm<sup>-1</sup> nie zostały 1259 odnotowane w przypadku UnMH, ale zostały zidentyfikowane w przypadku analizy 1260 FTIR widma Cipro (**Tabela 5.2**). Pasma te przypisano chinolinom, drganiom 1261 zginającym  $\delta$ (N-H), co mogło potwierdzać obecność Cipro w CLHs.

1262 Badanie morfologii powierzchni z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii
1263 elektronowej (SEM) sprzężonej ze spektroskopią rentgenowską z dyspersją energii
1264 (EDX)

1265 Powierzchnię hydrożeli zmodyfikowanych chlorowodorkiem cyprofloksacyny (CLHs:) w postaci wysuszonej (Tabela 3.2, próbki H4-H6) badano za pomoca 1266 1267 obrazowania SEM (Rys. 5.9). Po wysuszeniu hydrożeli miały postać cienkich, 1268 sztywnych, transparentnych filmów. W przypadku hydrożelu H4 na powierzchni 1269 równomiernie rozlokowane obserwowano struktury kraterowe bedace 1270 najprawdopodobniej wynikiem suszenia hydrożelu przed badaniem. . Rozmiary 1271 pojedynczych kratero-podobnych struktur mieściły się w przedziale 2-5 µm. 1272 W przypadku hydrożeli H5 i H6 nie zaobserwowano występowania struktur 1273 kraterowych - ich powierzchnie były płaskie.



Rys. 5.9. Wybrane obrazy SEM pokazujące kraterowate struktury na powierzchni H4 CLH oraz

brak tych struktur na powierzchni CLH H5 i H6 (powiększenie 2500x).

1274 1275

- 1276
- 1277

1278 Widma EDX (**Rys. 5.10**) potwierdziły obecność takich pierwiastków jak węgiel 1279 i tlen, które stanowiły główne pierwiastki występujące w polimerach stosowanych do 1280 produkcji CLHs. Obecność fluoru i chloru potwierdza z kolei obecność Cipro w CLHs, 1281 którą wczesniej potwierdzono przy pomocy FTIR Sugerowałoby to udaną modyfikację 1282 hydrożeli. Pasmo pochodzące od złota wynika z napylenia hydrożeli cienką warstwą





1283 złota przed badaniem. Z kolei sygnał pochodzący od sodu może pochodzić
1284 z nieprzereagowanego boraksu stosowanego jako środek sieciujący hydrożele.
1285 Sugerowałoby to, że po syntezie CLHs można pomyśleć o dalszym procesie
1286 oczyszczania.



1287

1288Rys. 5.10. Widma EDX dla CLHs: H4 – hydrożel sporządzony z roztworu 4% PVA,12891,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 1:1 (wag./wag.) , H5 –1290hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu1291w stosunku 2:1 (wag./wag.), H6 – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10%1292LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.)) oraz substancji aktywnej –1293cyprofloksacyny




1295 Wyniki analizy EDX (Rys. 5.10, Tabela 5.4) CLHs wykazały, że próbka H6 1296 charakteryzowała się nieco wyższą zawartością atomową fluoru (1,33  $\pm$  0,05%). 1297 Dla hydrożeli H4 i H5 zawartość atomowa fluoru wynosiła odpowiednio  $0.44 \pm 0.03\%$ i  $0.58 \pm 0.03\%$ . Na podstawie tej analizy można przypuszczać, że hydrożel H6 zawierał 1298 1299 nieco wyższa zawartość Cipro. Wynik ten jest zgodny z oczekiwaniami, ponieważ 1300 sposób otrzymywania hydrożeli modyfikowanych chlorowodorkiem cyprofloksacyny 1301 determinuje jego rosnącą zawartość od hydrożelu H4 do H6. Jednokierunkowa 1302 ANOVA i test Tukeya wykazały, że róznice w przedstawionych zawartościach fluoru 1303 dla trzech hydrożeli (H4, H5 i H6) były statystycznie istotne ( $\alpha = 0.05$ ).

1304

1305 **Tabela 5.4.** Masa i zawartość atomowa pierwiastków w hydrożelach H4, H5 i H6.

| Pierwiastek | H4             |                | Н5               |                | H6               |                  |  |
|-------------|----------------|----------------|------------------|----------------|------------------|------------------|--|
|             | Weight %       | Atomic %       | Weight %         | Atomic %       | Weight %         | Atomic %         |  |
| С           | $53.95\pm0.34$ | $61.21\pm0.34$ | $53.92\pm0,\!41$ | $62.64\pm0.50$ | $56.87\pm0.16$   | $64.25\pm0.19$   |  |
| 0           | $44.24\pm0.36$ | $37.67\pm0.33$ | $38.22\pm0.81$   | $33.34\pm0.69$ | $39.83 \pm 0.41$ | $33.78 \pm 0.33$ |  |
| F           | $0.61\pm0.05$  | $0.44\pm0.03$  | $0.79\pm0.04$    | $0.58\pm0.03$  | $1.86\pm0.07$    | $1.33\pm0.05$    |  |
| Na          | $1.08\pm0.01$  | $0.64\pm0.01$  | $3.15\pm 0.07$   | $1.91\pm0.04$  | $0.46\pm0.13$    | $0.27\pm0.07$    |  |
| Cl          | $0.11\pm0.07$  | $0.04\pm0.03$  | $3.92\pm0.31$    | $1.54\pm0.12$  | $0.98\pm0.06$    | $0.38\pm0.02$    |  |

1306

1307 Zaobserwowano rosnący udział wegla w hydrożelach wraz ze wzrostem 1308 stosunku PVA/boraks. Na przykład jednokierunkowa ocena ANOVA i test Tukeya 1309 potwierdziły, że dla próbki H4 (PVA/boraks = 1:1 w/w) zawartość atomowa C była 1310 nieco niższa (61,21  $\pm$  0,34%) niż dla próbki H6 (64,25  $\pm$  0,19%) przy stosunku 1311 PVA/boraks równym 3:1 w/w ( $\alpha = 0.05$ ). W przypadku zawartości tlenu wartości dla 1312 H4, H5 i H6 były bliskie wartości odpowiednio  $37,67 \pm 0,33\%$ ,  $33,34 \pm 0,69\%$  i  $33,78 \pm$ 1313 0,33%. Jednoczynnikowa analiza ANOVA i test Tukey'a wykazały, że zawartość tlenu 1314 dla H4 była istotnie wyższa niż dla H5 i H6, które były statystycznie takie same ( $\alpha$  = 1315 0,05). Analiza statystyczna próbek H4, H5 i H6 potwierdziła wpływ stosunku 1316 PVA/boraks na zawartość węgla, tlenu i fluoru w badanych hydrożelach, czego należało 1317 się spodziewać ze względu na zastosowane propocje komponentów wykorzystanych 1318 w procesie otrzymywania hydrożeli.





1319 5.1.3. Warstwa absorpcyjna typu A (porowata matryca typu A impregnowana
1320 hydrożelem typu A)

Badanie uwalniania chlorowodorku cyprofloksacyny z warstw absorpcyjnych typu A
przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)

1323 pomoca HPLC (Rys. 5.11) określono uwalnianie chlorowodorku Za 1324 cyprofloksacyny do środowiska wodnego z otrzymanych hybrydowych warstw absorpcyjnych A po czasie 5 i 15 minut – Rys. 5.12 i 5.13 oraz 1 i 7 dni – Rys. 5.14 1325 1326 i 5.15. Na Rys. 5.12 przedstawiono ilość uwalnianego Cipro w µg leku na 1 ml medium 1327 w zależności od rodzaju hydrożelu i matrycy użytej do uzyskania warstwy absorpcyjnej. 1328 Wartości te przeliczono również na zawartość uwolnionego Cipro w ug leku na 1 g 1329 warstwy absorpcyjnej (Rys. 5.13). Zaobserwowano, że wszystkie otrzymane 1330 hybrydowe warstwy wykazuja zdolność uwalniania Cipro. Zgodnie z Rvs. 5.12. 1331 warstwa F-HAL6 charakteryzowała się najwyższym poziomem uwalniania Cipro 1332 zarówno po 5, jak i 15 minutach (odpowiednio  $18,7 \pm 1,8 \ \mu g/ml \ i \ 21,76 \pm 0,64 \ \mu g/ml)$ w porównaniu z resztą badanych próbek. Oceniono również, że dla warstw 1333 1334 absorpcyjnych bazujących na kompozycji PUR/30PVA (F-HAL4, F-HAL5, F-HAL6) stężenia eluowanych leków były średnio o około 9% i 3% wyższe (odpowiednio 1335 1336 po 5 i 15 min uwalniania) niż dla warstw wytworzonych z kompozycji PUR/30PLA: F-HAL1, F-HAL2, F-HAL3 ( $\alpha = 0.05$ ). Uzyskane wyniki moga wynikać z wyższej 1337 1338 porowatości (81,01 ± 1,61%) i wiekszej średniej wielkości porów (103 ± 20  $\mu$ m) matryc PUR/30PVA w stosunku do matryc PUR/30PLA o porowatości  $72.03 \pm 2.04\%$  i średnierj 1339 1340 wielkości porów wynoszącej  $68 \pm 5 \mu m$ . Można wnioskować, że matryce o wyższej 1341 porowatości i wielkości porów były w stanie pochłonąć więcej hydrożelu 1342 zmodyfikowanego cyprofloksacyną w trakcie procesu impregnacji. Ponadto w przypadku systemów opartych na matrycy PUR/30PVA uwalnianie po 5 min badania 1343 1344 jest znacząco wyższe niż w przypadku warstw absorpcyjnych bazujących na warstwie 1345 PUR/30PLA, porównując między soba odpowiedniki z tym samym typem hydrożelu (F-HAL1 - F-HAL4, F-HAL2 - F-HAL4, F-HAL3 - F-HAL6). Wynik ten jest 1346 1347 determinowany zarówno przez porowatość jak i wielkość porów otrzymanych matryc 1348 porowatych typu A. Jak wcześniej wspomniano, matryce PUR/30PLA mają niższą 1349 porowatość jak i średnią wielkość porów od matryc PUR/30PVA, co znacząco





spowalnia proces uwalniania cyprofloksacyny w jego początkowym etapie. Można
zatem stwierdzić, że im wyższa porowatość i średnia wielkość porów w badanych
warstwach absorpcyjnych, tym szybsze i bardziej gwałtowne jest uwalnianie badanej
subnstancji aktywnej.

1354 Dodatkowo zaobserwowano, że rodzaj zastosowanego hydrożelu miał również 1355 istotny wpływ na proces uwalniania Cipro. Na przykład po 15 minutach uwalniania 1356 cyprofloksacyny dla próbek F-HAL1, F-HAL2 i F-HAL3 (Rys. 5.12) zawierających 1357 porowate matryce PUR/30PLA ilość Cipro wzrastała wraz ze wzrostem udziału 1358 roztworu PVA+Cipro wstosunku do boraksu (od  $13.0 \pm 2.2 \ \mu g/ml$  dla F-HAL1 do 18.1 1359  $\pm$  1,3 µg/ml dla F-HAL3). Identyczną sytuację można zaobserwować dla warstw 1360 absorpcyjnych bazujących na matrycach porowatych typu A oznaczonych PUR/30PVA, tj. F-HAL4, F-HAL5 i F-HAL6. Dla F-HAL4 (stosunek roztworów PVA + 1361 1362 Cipro/boraks równy 1:1 w/w) ilość uwolnionego Cipro po 15 min wynosiła  $17.2 \pm 1.5$ µg/ml, a dla F-HAL6 (stosunek roztworów PVA+Cipro/boraks w proporcji 3:1) 1363 1364 wynosiła 21,76  $\pm$  0,64 µg/ml. Zgodnie z oczekiwaniami, warstwy absorpcyjne 1365 zawierające hydrożel o wyższej zawartości cyprofloksacyny wykazują jej wyższe 1366 uwalnianie (zarówno po 5 jak i 15 min).

1367 Rys. 5.14 i 5.15 przedstawiają wyniki badań uwalniania dla hybrydowej 1368 warstwy absorpcyjnej F-HAL6. Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji 1369 ANOVA wykazała, że stężenia uwolnionego leku po 24 h i 7 dniach nie różniły się 1370 statystycznie od ilości uwolnionej po 15 min testu ( $\alpha = 0.05$ ). Oznacza to, 1371 że w badanym systemie F-HAL6 nie można mówić o przedłużonym uwalnianiu, 1372 ponieważ niemalże całkowite uwolnienie cyprofloksacyny do wody nastąpiło już po 15 1373 min. Spowodowane może być to faktem, że warstwa hydrożelowa (zawierająca 1374 cyprofloksacynę) warstwy absorpcyjnej typu A ulegała szybkiemu rozpuszczeniu 1375 w trakcie prowadzenia uwalniania do środowiska wodnego.

- 1376
- 1377







**Krok 1** Inkubacja próbek **Krok 2** Oczyszczanie próbek przed analizą **Krok 3** Analiza HPLC i obróbka danych

1378 1379

Rys. 5.11. Schemat przygotowania próbek do badania uwalniania cyprofloksacyny.



1380

1381Rys. 5.12. Stężenie uwolnionego Cipro po 5 i 15 min dla opatrunków kompozytowych F-

1382 HAL1, F-HAL2, F-HAL3, F-HAL4, F-HAL5 i F-HAL6 (\* różnica istotna statystrycznie:

1383  $\alpha = 0,05, n = 3$ ).







**Rys. 5.13.** Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 min dla opatrunków F-HAL1, F-HAL2, F-HAL3,

 $\alpha = 0,05, n = 3$ ).

1386 F-HAL4, F-HAL5 i F-HAL6 na 1 mg opatrunku (\*różnica istotna statystycznie:



**Rys. 5.14.** Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 minutach, 24 godzinach i 7 dniach dla opatrunku kompozytowego F-HAL6.







## 1393

1394 Rys. 5.15. Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 minutach, 24 godzinach i 7 dniach dla opatrunku
 1395 kompozytowego F-HAL6 na 1 mg opatrunku.

1396

#### 1397 5.2. Warstwa absorpcyjna typu B

1398 5.2.1. Wstępna ocena materiałów TPU/PLA (otrzymanych metodą wtrysku)
1399 przeznaczonych na filamenty

1400 Badania wytrzymałościowe materiałów TPU/PLA przeznaczonych na filamenty

1401 Wyniki próby rozciagania kompozycji polimerowych przygotowanych metoda 1402 wtrysku przedstawiono na Rysunku 5.16. Wytrzymałość na rozciąganie kompozycji 1403 złożonych z TPU i PLA jest podobna do TPU i wynosi ok. 30 MPa dla prawie 1404 wszystkich próbek COMP/PLA. Tylko jedna próbka (COMP-2,5PLA) wykazuje niższą 1405 wytrzymałość na rozciaganie (ok. 25 MPa). Wartości wydłużenia przy zerwaniu próbek 1406 COMP-2,5PLA i COMP-5PLA są znacznie wyższe niż dla mieszanki złożonej 1407 z samego TPU, ale próbki z większa ilością PLA mają podobne wydłużenie przy zerwaniu w porównaniu do TPU. Wydłużenie trwałe wzrasta wraz z ilością dodanego 1408 1409 PLA do zawartości 10% wag., gdzie stabilizuje się na poziomie około 140%. 1410 W porównaniu do próbek TPU, moduł Younga spada dla COMP-2,5PLA, a następnie 1411 wzrasta do 40 MPa dla próbek zawierających dodatek PLA w ilości 7,5% i więcej. 1412 Próbki o najlepszych włąściwościach mechanicznych pod względem próby rozciągania 1413 to te, które zawierają 7,5% PLA i więcej. Otrzymane wyniki są porównywalne





1414 z wynikami badań prowadzonych przez Jašo i współpracowników [136].
1415 Wytrzymałość na rozciąganie dla próbek COMP-2,5 – COMP-12,5 wynosząca
1416 ok. 30 MPa jest zbliżona do wyników uzyskanych przez Buys'a i jego
1417 współpracowników dla kompozycji złożonych z TPU i PLA zawierających do 50%
1418 wag. PLA (ok. 22,5 MPa) [210]. Na podstawie przeprowadzonych testów stwierdzono,
1419 że najkorzystniejsze wyniki pod względem prób rozciągania wykazywały materiały
1420 z zawartością PLA 7,5% i więcej.















1433

1434 Należy dodać, że badane próbki do testów wytrzymałościowych wykonane 1435 metodą wtryskową charakteryzowały się wysoką homogenicznością, co świadczy 1436 o dobrej mieszalności zastosowanych TPU i PLA w skali makroskopowej. Dowodzi 1437 tego **Rys. 5.17**, na którym przedstawiono próbkę kompozytową COMP-7,5PLA (a) 1438 zerwaną po próbie rozciągania w porównaniu do próbki TPU (b), która nie zawierała 1439 żadnego dodatków PLA. Można zaobserwować, że oba badane materiały po testach 1440 rozciągania wykazywały podobną teksturę (rys. 4.2).

1441





1444Rys. 5.17. Fotografie materiałów: a) COMP-7,5PLA i b) TPU przedstawiające powierzchnie1445powstałe po zerwaniu podczas prób wytrzymałości na rozciąganie



#### 1446 Twardość

1447 Wyniki badania twardości przedstawiono na Rys. 5.18. Zwiększanie zawartości PLA

1448 w składzie proporcjonalnie zwiększa twardość materiału. Wszystkie kompozycje z PLA
1449 mają wyższą twardość niż TPU bez jego dodatku.



1450

1451 **Rys. 5.18.** Twardość otrzymanych materiałów w zależności od składu

1452 5.2.2. Prototypy filamentów (otrzymane przez wytłaczanie)

1453 Badanie struktury chemicznej przy pomocy spektroskopii w podczerwieni
1454 z transformacją Fouriera (FTIR)

1455 Widma FTIR wytworzonych filamentów przedstawiono na Rys. 5.19. Widma 1456 filamentów kompozytowych zawierających TPU i PLA w różnych proporcjach sa podobne. Intensywne pasmo przy 1750 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom rozciagającym 1457 vC=O grup estrowych obecnych w PLA. W przypadku filamentów wytworzonych 1458 1459 z TPU oraz mieszanin TPU i PLA pasmo przy 1730 cm<sup>-1</sup> pochodzi od drgań rozciagających vC=O grup estrowych pochodzących z TPU i PLA, a silny sygnał 1460 występujący przy ok. 1690 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom rozciągającym vC=O grupy 1461 uretanowej pochodzącej od TPU. Pasmo o średniej intensywności przy ok. 1550 cm<sup>-1</sup> 1462 pochodzi od drgań zginających δN-H grupy uretanowej. Zaobserwowano również słabe 1463 sygnały przy 3300 cm<sup>-1</sup> (drgania rozciągające vN-H grupy uretanowej) i 2900 cm<sup>-1</sup> 1464 1465 (drgania rozciągające symetryczne i asymetryczne wiazania C-H grupy -CH<sub>2</sub>-). Pasma





1466 występujące między 1200 a 1000 cm<sup>-1</sup>mogą być związane z drganiami rozciągającymi
1467 vC-O i vC-(C=O)-O grup uretanowych i estrowych.



1468 1469

1470

**Rys. 5.19.**Widma FTIRfilamentów wykonanych z TPU, PLA i kompozycji COMP-2,5 – COMP-12,5

1471 Można zauważyć (Rys. 5.19), że dla niskich zawartości PLA w kompozycji (COMP-2,5PLA oraz COMP-5PLA) widma spektroskopowe sa bardzo podobne 1472 1473 do widma TPU i nie obserwuje się osobnego pasma drgań rozciągających vC=O grupy 1474 estrowej pochodzącej od PLA. Świadczy to o dobrej mieszalności mikrofazowej TPU 1475 i PLA do zawartości do 5% wag. PLA w kompozycji. Dla COMP-7,5PLA, COMP-10PLA oraz COMP-12,5PLA na widmach spektroskopowych pojawia się poszerzenie 1476 podstawy piku vC=O od grup estrowych przy 1730 cm<sup>-1</sup> pochodzacego od dobrze 1477 1478 wymieszanych TPU i PLA. Poszerzenie to pochodzi od grupy estrowej 1479 niewymieszanego PLA i znajduje się przy ok. 1770 – 1750 cm<sup>-1</sup>. Świadczy ono 1480 o obecności obszarów charakteryzujących się separacją mikrofazową pomiędzy TPU 1481 a PLA. Warto dodać, że w pracach Yang [211] i Zuo [212] również wykazano separacje 1482 fazową blendów wytworzonych z TPU i PLA i jej wpływ na właściwości mechaniczne.

1483 W przypadku badanych w pracy doktorskiej kompozycji dodatek PLA do TPU
1484 o wartości 7,5% wag. i więcej spowodował znaczne zwiększenie wartości modułu





1485 Younga oraz twardości. Można zatem wnioskować, że separacja mikrofazowa mająca miejsce dla blendów z 7,5% wag. i więcej PLA powoduje polepszenie niektórych 1486 1487 właściwości mechanicznych, co jest zgodne z doniesieniami literaturowymi [132]. 1488 W przypadku blend wykazujących separację w postaci sferycznych domen jednego 1489 polimeru w drugim lepsze właściwości mechaniczne wykazuja mieszaniny 1490 o mniejszych i bardziej równomiernie rozproszonych domenach [213]. Z kolei bardziej 1491 jednolitą dyspersję można uzyskać stosując w blendach polimerowych komponenty 1492 o zbliżonych wartościach lepkości, pomiędzy którymi występuje wysoka adhezja 1493 międzyfazowa [213]–[215].

1494 Analiza powierzchni otrzymanych filamentów z wykorzystaniem skaningowej 1495 mikroskopii elektronowej (SEM)

1496 Fotografie SEM badanych filamentów przedstrawiono na Rysunku 5.20. próbki wykazywały 1497 Wszystkie testowane chropowatą fakture powierzchni. 1498 W przypadku filamentów COMP-2,5PLA, COMP-5PLA oraz COMP-7,5PLA 1499 chropowate powierzchnie tworzone są przez równomiernie rozmieszczone struktury o rozmiarach poniżej 5 µm. Z kolei w przypadku filamentów o najwyższej zawartości 1500 1501 PLA (COMP 10PLA i COMP-12,5PLA) struktury tworzące chropowate powierzchnie 1502 są dużo większe (ok.  $20 - 50 \mu m$ ) i rozlokowane w sposób nierównomierny. Faktura 1503 powierzchni filamentu jest jednym z istotnych parametrów determinującym 1504 drukowalność. W dalszej części pracy zostaną przedstawione testy drukowalności 1505 wytworzonych filamentów w odniesieniu do ich faktury powierzchni.

- 1506
- 1507
- 1508
- 1509
- 1510
- 1511

| Próbka       |       | Przed degradacją |        |  |  |
|--------------|-------|------------------|--------|--|--|
| Powiększenie | X 250 | X 1000           | X 2500 |  |  |













#### Rys. 5.20. Fotografie SEM otrzymanych filamentów

1512

1514

#### 1515 Degradacja krótkoterminowa

1516 Na Rysunku 5.21a przedstawiono wynik degradacji krótkoterminowej po 15 1517 dniach inkubacji w mediach degradacyjnych. W przypadku badania w środowisku 1518 alkalicznym próbki filamentów wykonane wyłacznie z PLA uległy całkowitej 1519 degradacji, a próbki z TPU zdegradowały w ok. 12%. Wraz ze wzrostem ilości PLA 1520 w składzie filamentów TPU/PLA zaobserwowano wzrost stopnia ich degradacji w 5M 1521 NaOH, co przedstawia również Rys. 5.22. Mechanizm degradacji można wyjaśnić na 1522 podstawie Rys. 5.21b, na którym przedstawiono widma FTIR próbek filamentów 1523 COMP-7,5PLA przed i po procesie degradacji we wszystkich trzech mediach 1524 degradacyjnych.W środowisku alkalicznym degradacja badanych filamentów TPU/PLA 1525 zachodzi głównie poprzez grupy estrowe, o czym świadczyć może zanik sygnału pochodzących od drgań rozciągających vC=O w zakresie 1770 - 1750 cm<sup>-1</sup> (PLA 1526 tworzące struktury domenowe), a także zmniejszenie intensywności piku przy 1527 1528 1750 cm<sup>-1</sup> (degradacja grup estrowych zmieszanych TPU i PLA). Van Nostrum [216], 1529 [217] opisuje alkaliczną degradację PLA poprzez tzw. zjawisko "backbittingu" 1530 polegające na wewnątrzcząsteczkowej kondensacji katalizowanej grupą hydroksylową 1531 pomiędzy terminalną grupą karboksylową PLA a poprzedzająca ją grupą estrową, 1532 w wyniku której wydziela się laktyd (dimer kwasu mlekowego). Co ważne, szybkość 1533 degradacji alkalicznej PLA nie zależy od długości łańcucha [216], [217]. Badania 1534 prowadzone przez N. A. Ramlee również potwierdzają wysoką podatność PLA 1535 na degradację hydrolityczną w środowisku alkalicznym [218], a Y. F. Buys stwierdził, że wzrost zawartości PLA w składzie mieszanin TPU/PLA zwiększa podatność blendu 1536 1537 na degradację hydrolityczną w środowisku alkalicznym [210].





1538 Również w przypadku degradacji w środowisku kwaśnym można zaobserwować, że ze wzrostem zawartości PLA w filamencie stopień degradacji 1539 1540 zwiększa się (Rys. 5.21a). Jednakże dla wszystkich kompozycji TPU/PLA rozkład 1541 w HCl był wolniejszy niż w przypadku próbek filamentu wykonanego wyłacznie z TPU 1542 (ok. 37%). Przeglad literaturowy również potwierdza wysoka podatność TPU 1543 otrzymanego na bazie poliestrodioli na degradację kwasową [219]. Dla filamentu 1544 wykonanego jedynie z PLA stopień degradacji po 15 dniach wynosił jedynie ok. 4 %. 1545 Jest to spowodowane wysoką krystalicznością zastosowanego PLA Ingeo 7032D 1546 oszacowana na ok. 32% (dla zastosowanego PLA entalpia topnienia  $\Delta H_m$  wynosi 46,3 J/g [220], a teoretyczna entalpia topnienia  $\Delta H_m^0$  w 100% krystalicznego PLA wynosi 1547 1548 144 J/g [221]). Wyższa odporność krystalicznego PLA na warunki kwaśne została 1549 również potwierdzona w literaturze, m. in. Przez Gorrasi [217]. Dodatek bardziej 1550 odpornego od TPU na degradacje kwaśna PLA może więc wyjasniać ogólne obniżenie 1551 poziomu degradacji mieszanin TPU/PLA w stosunku do TPU. Należy także zaznaczyć, 1552 że wszystkie próbki filamentów wytworzonych z kompozycji TPU/PLA degradowały 1553 szybciej w środowisku alkalicznym niż kwasnym, i w obu przypadkach stopień 1554 degradacji wzrastał z rosnącym dodatkiem PLA. Wyjaśnieniem może być fakt, że stała 1555 kinetyczna degradacji alkalicznej PLA jest wyższa niż ta sama stała wyznaczona 1556 dla degradacji kwaśnej [217]. Z widm spektroskopowych FTIR (Rys. 5.21b) można 1557 wnioskować, że proces degradacji filamentów w 2M HCl wykonanych z mieszanin 1558 TPU/PLA zachodzi zarówno poprzez oddziaływanie medium kwaśnego z grupą uretanowa pochodzaca od TPU (świadczy o tym zanik sygnału pochodzącego od drgań 1559 rozciagających vN-H przy ok. 3300 cm<sup>-1</sup>, obniżona intensywność pasma vC=O przy 1560 1690 cm<sup>-1</sup> i znaczne zmniejszenie natężenia sygnału δN-H przy ok. 1550 cm<sup>-1</sup>), 1561 jak i z grupą estrową, o czym świadczyć może zanik sygnału pochodzących od drgań 1562 1563 rozciągających vC=O w zakresie 1770 - 1750 cm<sup>-1</sup> (PLA tworzące struktury 1564 domenowe).

1565 W przypadku degradacji filamentów w roztworze  $CoCl_2$  w  $H_2O_2$  stopień 1566 degradacji nie przekraczał 5%. Podobnego stopnia degradacji badanych materiałów 1567 możnaby było się spodziewać w warunkach fizjologicznych, gdyż szacuje się że 15 dni 1568 w tym medium odpowiada ok. 10 tygodniom w warunkach *in vivo* [195]. Analiza widm 1569 próbki COMP-7,5PLA po badaniach degradacji w roztworze CoCl<sub>2</sub> w  $H_2O_2$  również





1570 wskazuje na niski stopień degradacji otrzymanych filamentów w medium utleniającym
1571 (brak jakichkolwiek zmian na widmie próbki po degradacji w porównaniu do widma
1572 dla próbki przed degradacją). Można więc wnioskować, że badane materiały będą
1573 stabilne w środowisku gojenia się rany.

1574



1575 Rys. 5.21. Zmiana masy filamentów poddanych badaniu degradacji krótkoterminowej (a)
 1576 i widma FTIR filamentów COMP-7,5PLA przed i po procesie degradacji w 0,1M CoCl<sub>2</sub>
 1577 w 20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2M HCl i %M NaOH (b)









1579 Rys. 5.22. Fotografie próbek filamentów przed i po procesie degradacji krótkoterminowej w 5M roztworze NaOH

#### 1580

#### 1581 Badanie kalcyfikacji

1582 Na Rysunku 5.23 przedstawiono wyniki badań kalcyfikacji próbek TPU, PLA 1583 oraz kompozycji TPU/PLA. Zmiany masy próbek zawierają się w zakresie od 0,05% 1584 spadku masy do ok. 0,5% wzrostu masy. Można więc uznać je za pomijalnie małe dla wszystkich próbek. Brak przyrostu masy filamentów można wytłumaczyć powolną 1585 1586 hydrolizą materiału [222], która kompensuje wzrost spowodowany osadzaniem 1587 kryształów soli.

1588 Zdjęcia próbek przed i po badaniu kalcyfikacji zamieszczono na Rysunku 5.24. 1589 W pierwszej kolejności należy zaznaczyć, że na powierzchni próbki filamentu TPU nie 1590 osadziły się aglomeraty soli, a na próbce filamentu PLA takie aglomeraty powstały. 1591 Próbki o niższej zawartości PLA (do 7,5% włącznie) nie były podatne na wytrącanie się 1592 aglomeratów soli na ich powierzchni. Z kolei dla próbek filamentów z zawartością 10% 1593 wag. PLA i powyżej widoczne są kryształy soli na powierzchni filamentów.









1595 Rys. 5.23. Zmiana masy próbek filamentów poddanych kalcyfikacji w roztworze Golomba 1596 Wagnera
 1597

| Próbka      | Przed badanie | m kalcyfikacji  | Po badaniu kalcyfikacji |                  |  |  |
|-------------|---------------|-----------------|-------------------------|------------------|--|--|
|             | X40           | X800            | X40                     | X800             |  |  |
| TPU         | 1 <u>mm</u>   | 0, <u>05 mm</u> |                         | 0, <u>05 m</u> m |  |  |
| PLA         | l mm          | 0, <u>05 mm</u> | 1 mm                    | 0, <u>05 mm</u>  |  |  |
| COMP-2,5PLA | l mm          | 0, <u>05 mm</u> | 1 mm                    | 0, <u>05 mm</u>  |  |  |
| COMP-5PLA   | 1 mm          | 0, <u>05 mm</u> | 1 mm                    | 0, <u>05 m</u> m |  |  |







### 1598 **Rys. 5.24.** Mikroskopia optyczna próbek filamentów przed i po procesie kalcyfikacji

1599 Badanie możliwości wydruku z otrzymanych filamentów

1600 Przedmiotem analizy możliwości wydruku były porowate matryce B. Próby 1601 prowadzono w temperaturze 220°C Podczas testów druku przestrzennego zauważono, 1602 że filamenty o dużej zawartości PLA (10 i 12,5% wag.) zatykaja dysze drukarki 3D, 1603 co może być spowodowane niska homogenicznościa tych próbek. Stwierdzono, 1604 że wszystkie kompozycje zawierające do 7,5% wag. PLA (COMP-2,5PLA, COMP-5PLA oraz COMP-7,5PLA) pozwalają na otrzymanie filamentu nadającego się do 1605 1606 druku 3D w technologii FDM. Na Rysunku 5.25 pokazano otrzymany filament COMP-7,5PLA oraz wydrukowane z niego matryce porowate B o kształcie wypełnienia 1607 1608 heksagonalnym, liniowym i trójkatnym.

1609 Na podstawie analizy możliwości wydruku oraz badań wytrzymałościowych
1610 do modyfikacji siarczanem (VI) amikacyny wytypowano filament COMP-7,5PLA.

1611









#### 1615

1616 Badanie właściwości antybakteryjnych

1617 Wyniki badań mikrobiologicznych podsumowano w Tabeli 5.5. Strefy 1618 zahamowania wzrostu dla filamentów modyfikowanych siarczanem (VI) amikacyny 1619 przedstawiono na Rys. 5.26. Filament AMI-1 (modyfikacja filamentu poprzez 1620 namaczanie w roztworze wodnym farmaceutyku) wykazuja działanie przciwbakteryjne. 1621 Z kolei filament AMI-2 (koekstruzja z siarczanem (VI) amikacyny) nie posiadał 1622 właściwości przeciwbakteryjnych. W przypadku, kiedy substancja aktywna 1623 umieszczona jest na powierzchni materiału ma ona możliwość natychmiastowej reakcji 1624 z otoczeniem [223]. Wyniki sugerują, że w przypadku metody ko-ekstruzji (AMI-2) 1625 należy zastosować większą ilość siarczanu (VI) amikacyny, aby uzyskać właściwości 1626 antybakteryjne podobne do modyfikowanego filamentu AMI-1.

1627

### 1628 **Tabela 5.5.** Podsumowanie badań mikrobiologicznych

| Próbka       | E. coli | P. fluorescens | S. aureus | S. epidermidis |
|--------------|---------|----------------|-----------|----------------|
| COMP-7,5 PLA | _*      | -              | -         | -              |
| AMI-1 - 1    | +**     | +              | +         | +              |
| AMI-2 - 1    | -       | -              | -         | -              |

1629 \*brak właściwości antybakteryjnych, \*\*właściwości antybakteryjne



1631 Rys. 5.26. Strefy zahamowania wzrostu wobec szczepów: A) E.coli, B) P. fluorescens,
1632 C) S. aureus, D) S. epidermidis dla filamentu AMI-1





1633 Badanie profilu uwalniania siarczanu (VI) amikacyny ze zmodyfikowanych
1634 filamentów (HPLC)

1635 Przeprowadzono walidację metody HPLC-MS/MS. Polegała ona 1636 na oszacowaniuzakresu liniowościsygnału, granicy wykrywalności (LOD) i granicy 1637 oznaczalności (LOQ). Otrzymane krzywe kalibracyjne były liniowe w badanym 1638 zakresie stężeń, co przedstawiono na **Rysunku 5.27**. Parametry krzywej kalibracyjnej 1639 przedstawiono w **Tabeli 5.6**.



1640

1641 Rys. 5.27. Krzywa kalibracyjna dla siarczanu (VI) amikacyny w przedziale stężeń 2,5 - 75
 1642 μg/ml

- 1643
- 10-5
- 1644 **Tabela 5.6.** Parametry kalibracyjne

| Zakres<br>[µg/mL] | $\mathbf{y} = \mathbf{a}\mathbf{x} + \mathbf{b}$ | S <sub>a</sub> S <sub>b</sub> |       | $\mathbf{R}^2$ | LOD<br>[µg/mL] | LOQ<br>[µg/mL] |
|-------------------|--|-------------------------------|-------|----------------|----------------|----------------|
| 2,5 ÷ 75          | y = 309242x - 897766                             | 1937                          | 67783 | 0,9994         | 0,72           | 2,2            |

1645

1646 W przypadku filamentu zmodyfikowanego poprzez zanurzenie w wodnym 1647 roztworze siarczanu (VI) amikacyny (AMI-1) uwalnianie nastąpiło po 2 minutach (192 1648  $\pm$  41 µg/ml), co można zaobserwować na **Rys. 5.28**. Wynika to prawdopodobnie 1649 ze słabego oddziaływania siarczanu (VI) amikacyny z grupami funkcyjnymi obecnymi





1650 w mieszaninie TPU/PLA. Wraz z wydłużeniem czasu uwalniania nie zaobserwowano 1651 istotnych różnic w stężeniu amikacyny (uzyskiwane poziomy stężeń po teście zanurzeniowym mieściły się w zakresie  $192 \div 229 \ \mu g$  amikacynyw przeliczeniu na 1 g 1652 suchej masy filamentu. Dodatkowo próbki po 2 i 5 minutach zanurzenia ponownie 1653 1654 testowano i zanurzano przez kolejne 3 dni, po czym analizowano roztwory metoda HPLC-MS/MS. Stwierdzono, że stężenia amikacyny były poniżej zakresu krzywej 1655 1656 kalibracyjnej, co pozwoliło potwierdzić, że po 2 minutach zanurzenia całkowita ilość 1657 amikacyny została uwolniona z filamentu do roztworu wodnego. Można zatem 1658 stwierdzić, że tak jak w przypadku warstw porowatych typu A (zawierających 1659 cyprofloksacynę), tak i tutaj nie zachodzi zjawisko kontrolowanego uwalniania leku. 1660 W przypadku uwalniania AMI z powierzchni filamentu zjawisko to zachodzi jeszcze 1661 szybciej niż w przypadku uwalniania z matryc porowatych A.



1662

1663

Rys. 5.28. Czasowy profil uwalniania siarczanu (VI) amikacyny z filamentu AMI-1

1664

W przypadku filamentów AMI-2 wykonanych metodą koekstruzji z siarczanem
(VI) amikacycny nie zaobserwowano uwalniania amikacyny do roztworu wodnego
po teście zanurzeniowym. Nawet po 7 dniach zanurzenia filamentu stężenie
amikacynyznajdowało się poniżej zakresu krzywej kalibracyjnej. Dodatkowo próbki
analizowano w trybie SCAN i obserwowano bardzo słaby sygnał od amikacyny. **Rys. 5.29** przedstawia różnice w intensywności pików siarczanu (VI) amikacyny
w zależności od typu badanego filamentu.









1673 Rys. 5.29. Piki chromatograficzne siarczanu (VI) amikacyny uwolnionego z: A) filamentu
 1674 AMI-1 po 7 dniach oddziaływania z wodą, B) filamentu AMI-2 po 7 dniach oddziaływania
 1675 z wodą

1676 5.2.3. Matryce porowate B drukowane w technologii 3D FDM

1677 Badanie wielkości porów polimerowych matryc drukowanych z filamentu 1678 COMP-7,5PLA o różnych architekturach wypełnienia

1679 Wyniki badania wielkości porów dla matryc porowatych B drukowanych 1680 w technologii FDM przedstawiono na **Rys. 5.30.** Otrzymane wartości wielkości porów 1681 są zgodne z wartościami załozonymi w trakcie projektu. Najniższa wartością 1682  $(1,13 \pm 0,07 \text{ mm})$  cechowały się matryce o wypełnieniu liniowym (projektowana 1683 wartość: 1,1 mm). Dla matryc heksagonalnych oraz trójkątnych średnie wielkości 1684 porów wynosiły kolejno: 2,97 ± 0,03 mm oraz 3,00 ± 0,04 mm (dla obu założono 1685 wartość 3 mm).

1686 Prezentowane matryce porowate typu B charakteryzują się znacznie większymi wielkościami porów (ok. 1 – 3 mm) w porównaniu do wielkości wyznaczonych 1687 dla matryc porowatych A (CPMs), dla których pory charakteryzowały się wymiarami 1688 1689 w zakresie ok.  $60 - 160 \,\mu\text{m}$ . Jednakże odchylenia standardowe dla matryc porowatych 1690 B są znacznie niższe w odniesieniu do odchyleń wyznaczonych dla matryc porowatych 1691 A, co świadczy o weższym rozkładzie wielkosci porów tych pierwszych. Na podstawie 1692 uzyskanych wyników można zatem stwierdzić, że zastosowanie druku w technologii 1693 FDM pozwala na otrzymanie matryc porowatych warstwy absorpcyjnej 1694 o kontrolowanej wielkości porów, co jest znaczną zaletą w stosunku do metody SC/PL.







# 1696Rys. 5.30. Średni rozmiar porów ( $\pm$ odchylenie standardowe) oraz zakresy wielkości porów1697otrzymanych matryc porowatych B (n = 10)

1698

1695

# 1699 Badanie właściwości mechanicznych polimerowych matryc drukowanych z filamentu 1700 COMP-7,5PLA o różnych architekturach wypełnienia

1701 Próba statycznego rozciagania matryc poliuretanowych pozwoliła na określenie 1702 ich wytrzymałości na rozciąganie oraz wydłużenia przy zerwaniu. W wyniku 1703 rozciągania próbek otrzymano po trzy wykresy zależności naprężenia od wydłużenia 1704 dla każdego rodzaju wypełnienia matryc. Z otrzymanych danych wyznaczono 1705 maksymalne naprężenie - wytrzymałość na rozciąganie (T<sub>SB</sub>) oraz maksymalne 1706 wydłużenie przy zerwaniu próbek (ɛ). Otrzymane wyniki uśredniono i umieszczono 1707 w Tabeli 5.7. Największą wytrzymałością na rozciąganie charakteryzują się próbki 1708 matryc o wypełnieniu liniowym, (12,53±0,52 MPa), z kolei najmniejszą osiągają próbki 1709 o wypełnieniu trójkątnym (8,86 ± 0,31 MPa). Analogiczną zależność otrzymano 1710 dla wartości maksymalnego wydłużenia przy zerwaniu - najwyższym wydłużeniem 1711 cechuje się matryca o wypełnieniu liniowym (1871,52  $\pm$  3,36%), a najniższym matryca





- 1712 o wypełnieniu trójkątnym (1514,20 ± 98,60%). Krzywe zależności naprężenia
  1713 od wydłużenia przedstawiono na **Rys. 5.31- 5.33**.
- 1714 **Tabela 5.7**. Średnie wartości wytrzymałości na rozciaganie i wudłużenia przy zerwaniu matryc
- 1715 porowatych typu B wraz z odchyleniami standardowymi (n = 3)

|                 | Średnia wytrzymałość | Średnie wydłużenie  |  |  |
|-----------------|----------------------|---------------------|--|--|
| Typ wypełnienia | na rozciąganie [MPa] | przy zerwaniu [%]   |  |  |
| Heksagonalne    | $10,37 \pm 0,85$     | $1821,50 \pm 50,70$ |  |  |
| Liniowe         | $12,53 \pm 0,52$     | $1871,52 \pm 3,36$  |  |  |
| Trójkątne       | $8,86 \pm 0,31$      | $1514,20 \pm 98,60$ |  |  |

1716



 1718 Rys. 5.31. Wykres zależności naprężenia od wydłużenia dla trzech próbek matryc 1719 o wypełnieniu heksagonalnym













**Rys. 5.33**. Wykres zależności naprężenia od wydłużenia dla trzech próbek matryc o wypełnieniu trójkątnym

Na podstawie przeprowadzonych badań wytrzymałościowych oraz analizy
wielkości porów do wytworzenia hybrydowego plastra wybrano porowatą matrycę B
o wypełnieniu liniowym (30% gęstość wypełnienia) wykonaną z filamentu COMP7,5PLA. Ze względu na wałsćiwości mechaniczne zadecydowała najwyższa
wytrzymałość na zerwanie i i najwyższe wydłużenie przy zerwaniu matrycy porowatej
typu B o wypełnieniu liniowym.





# 1732 5.2.4. Hydrożele typu B (Agar/PVA i Agar/PVP sieciowane boraksem)

1733 Ocena homogeniczności warstw hydrożelowych przy pomocy mikroskopii optycznej

1734 Optyczna analiza mikroskopowa pozwoliła zaobserwować homogenizację 1735 siarczanu amikacyny i pozostałych substratów stosowanych w syntezie hydrożeli. 1736 Wyniki tych badań przedstawiono na **Rys. 5.34 i 5.35**. Nie zaobserwowano wtrąceń 1737 i zanieczyszczeń. Wszystkie próbki hydrożelu uległy równomiernej homogenizacji.



1738

1739 Rys. 5.34. Fotografie powierzchni powierzchni hydrożeli: AG/0.8PVP/0.8BOR (po lewej) i

- 1740AG/0.8PVP/0.8BOR/AM (po prawej) obserwowane za pomocą mikroskopu optycznego1741(skala: 200 μm)
- 1742



- 1743
- 1744
- 1745
- 1746

**Rys. 5.35.** Fotografie powierzchni hydrożeli AG/0.8PVA/0.8BOR (po lewej) i AG/0.8PVA/0.8BOR/AM (po prawej) uzyskane za pomocą mikroskopu optycznego (skala: 200 μm)

1747 Badanie kinetyki pęcznienia

Absorpcja wody jest kluczową cechą hydrożeli ze względu na ich zastosowanie
w opatrunkach na rany. Wysoka pęcznienia równowagowego wskazuje na dobrą
zdolność wchłaniania wysięku z rany [89]. W trakcie tego badania najpierw zbadano





1751 kinetykę pęcznienia różnych hydrożeli, aby wybrać próbki o najlepszych zdolnościach
1752 chłonnych i zmodyfikować je siarczanem amikacyny. Krzywe pęcznienia
1753 dla wszystkich hydrożeli niezmodyfikowanych siarczanem amikacynyprzedstawiono
1754 na Rys. 5.36, a dopasowane krzywe modeli kinetyki pęcznienia pokazano na Rys. 5.37
1755 i 5.38.







W zależności od składu hydrożele podzielono na trzy grupy. Na Rys. 5.36a 1760 1761 przedstawiono widma dla próbek hydrożeli AG, AG/0.8BOR i AG/1.6BOR, które 1762 zsyntetyzowano bez użycia syntetycznych polimerów, takich jak PVA czy PVP. Aby 1763 sprawdzić wpływ ich dodatku na skład hydrożelu, na Rys. 5.36b, 5.36c przedstawiono 1764 również krzywe pęcznienia dla hydrożeli zsyntetyzowanych z użyciem agaru, PVA lub 1765 PVP i tetraboranu sodu. Można zauważyć, że dla hydrożeli AG, AG/0.8BOR i AG/1.6BOR największy wzrost pęcznienia zaobserwowano w pierwszym etapie 1766 1767 badania (zakres 400 do 600%po 5 min). W porównaniu do hydrożelu AG można zauważyć, że dodatek 0,8% wag. % BOR powoduje szybsze pęcznienie, 1768 1769 co potwierdzają również wartości stałych kinetycznych K zawarte w Tabeli 5.8 1770 i na Rys. 5.39, które zawierają wszystkie obliczone parametry pecznienia. Hydrożel AG charakteryzuje sie wartościa stałej K<sub>2</sub> równa  $1.23 \pm 0.25 \times 10^{-4}$  %<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>, natomiast 1771 dla AG/0.8BOR osiagneła ona wartość  $15.40 \pm 3.53 \times 10^{-4} \text{ }\%^{-1}\text{min}^{-1}$  (biorac pod uwage 1772 1773 nieliniowy model matematyczny drugiego rzędu). Ponadto dodatek 1,6% wag. % BOR 1774 dodatkowo zwiększa szybkość pęcznienia, ale zmniejsza ogólny stopień pęcznienia 1775 w porównaniu z hydrożelem AG/0.8BOR. Dla hydrożelu AG/1.6BOR pęcznienie





1776 równowagowe  $W_{eq}$ osiągnęło 553,94 ± 6,56%, czyli znacznie mniej niż pęcznienie 1777 równowagowe dla AG/0.8BOR (711,66 ± 7,27%), wyznaczone przy użyciu modelu 1778 nieliniowego drugiego rzędu. Można ten fakt wytłumaczyć tym, że wzrost ilości srodka 1779 sieciującego ma istotny wpływ wielkosc gęstość usiecowania i średnia masę 1780 czatseczkowa lańcuchów między wezlami sieci, co szczegółowo zostanie 1781 przerdstawione w dalszej czesci pracy.

W przypadku hydrożeli zawierających PVA lub PVP można zaobserwować 1782 podobny trend. Wyższa zawartość BOR (1,6% wag.) obniża wartości Weg. Na przykład, 1783 1784 AG/0.4PVA/0.8BOR wykazuje znacznie wyższa wartość pecznienia równowagowego 1785 (1204,15 ± 16,15%) niż AG/0.4PVA/1.6BOR (665,66 ± 5,03%) dla nieliniowego 1786 modelu kinetycznego drugiego rzędu. Można również zaobserwować, że zawartość 1787 PVA lub PVP w hydrożelach ma silny wpływ na właściwości chłonne hydrożeli [58]. 1788 [224], [225]. Ogólnie, dodatek wspomnianych polimerów syntetycznych powoduje 1789 zwiększenie pęcznienia równowagowego, ale wzrost ten jest większy dla hydrożeli 1790 z dodatkiem PVA. Hydrożele z taką samą zawartością BOR i polimerów syntetycznych 1791 różniących się jedynie rodzajem dodawanego polimeru (PVA lub PVP) wykazują odmienne wartości $W_{eq}$ . Na przykład, hydrożel AG/0.8PVA/0.8BOR osiągnął 1289,14 ± 1792 1793 19,58%, a hydrożel AG/0.8PVP/0.8BOR wykazywał 938,71 ± 5,34% pęcznienia 1794 równowagowego, biorac pod uwagę nieliniowy model kinetyczny drugiego rzędu. 1795 Dodatkowo, oba wymienione hydrożele charakteryzowały się najwyższymi 1796 wskaźnikami pęcznienia spośród wszystkich hydrożeli niemodyfikowanych siarczanem 1797 amikacyny. Zaobserwowano również, że zwiększenie ilości polimerów syntetycznych 1798 (PVA lub PVP) od 0,4% wag. % do 0,8% wag. % w kompozycjach hydrożelowych 1799 powoduje znaczny wzrost pęcznienia równowagowego (Rys. 5.36b, 5.36c). Kompozycje hydrożelowe bazujące na PVA i PVP sieciowane tetraboranem sodu 1800 1801 wykazują wysokie właściwości chłonne, co potwierdzili również w badaniach Husain 1802 i inni [58] oraz Huang i inni [224].

Zaobserwowano, że w przypadku wytworzonych hydrożelirodzaj zastosowanego
polimeru syntetycznego wpływa na profil pęcznienia. Hydrożele zawierające PVA
charakteryzują się powolnym, stopniowym wzrostem pęcznienia w czasie. Na przykład,
hydrożele AG/0.4PVA/0.8BOR i AG/0.8PVA/0.8BOR osiągnęły pęcznienie
równowagowe po 105 minutach od rozpoczęcia eksperymentu (**Rys. 5.36b**). Natomiast



1808 hydrożele zsyntezowane z dodatkiem PVP wykazują o wiele szybszy wzrost pęcznienia 1809 w czasie (**Rys. 5.36c**) – pecznienie równowagowe zaczyna sie stabilizować już po 30 1810 min eksperymentu. Oznacza to, że hydrożele zawierające PVP zapewniają wysoką 1811 zdolność chłonna szybciej niż hydrożele zawierające PVA. Warto również dodać, 1812 że opatrunek hydrożelowy powinien być w stanie w krótkim czasie osiagnać stan 1813 równowagi pomiędzy równoczesnym procesem pochłaniania i oddawania wody, 1814 ponieważ woda zawarta w hydrożelu odpowiada za transport substancji aktywnych 1815 z hydrożelu do rany [226].

1816 Pierwszy etap regeneracji rany charakteryzuje się dużą ilością wysięku 1817 tkankowego. Wysokie właściwości chłonne hydrożeli zapewniają szybkie pochłanianie 1818 wysięku, dzięki czemu umożliwiają utrzymanie rany w czystości. Pozwala to uniknąć 1819 zakażeń bakteryjnych i sprzyja szybszej regeneracji ran [227], [228]. Wszystkie 1820 zsyntetyzowane hydrożele niemodyfikowane siarczanem amikacyny wykazują 1821 pecznienie równowagowe 400%, co pozwala na ich potencjalne powyżej 1822 zastosowaniaopatrunkowe. Wysokie właściwości chłonne umożliwiają także 1823 bioaktywację hydrożelu poprzez proces absorpcji wody zawierającej substancje 1824 farmaceutyczne lub różne bio-cząsteczki, takie jak peptydy, enzymy, kwasy 1825 nukleinowe, sacharydy, przeciwciała, a także żywe komórki [229].

1826 Ponadto, podobny wynik uzyskali Ngadaonye i inni. podczas badań nad 1827 kinetyką pęcznienia hydrożeli na bazie chitozanu i N,N-dietyloakrylamidu w wodzie 1828 destylowanej, które mogą być potencjalnie stosowane jako opatrunki [230]. Należy 1829 zaznaczyć, że zdolność absorpcyjna hydrożeli otrzymanych przez J. I. Ngadaonye nie 1830 przekraczała 200%. Można zatem wnioskować, że hydrożelezsyntetyzowane na bazie 1831 agaru mogłyby być również stosowane jako opatrunki na rany, a wysokie właściwości 1832 sorpcyjne pozwalają na zastosowanie jako opatrunek na rany z dużym wysiękiem. 1833 Ze względu na wysokie właściwości pęcznienia równowagowego hydrożeli 1834 AG/0.8PVA/0.8BOR i AG/0.8PVP/0.8BOR (powyżej 900%) oraz ich różny profil 1835 pęcznienia (wolniejsze i szybsze dochodzenie do stanu równowagi) wybrano je do 1836 modyfikacji siarczanu amikacyny.

1837 Eksperymentalne dane pęcznienia porównano z krzywymi dopasowanymi 1838 za pomocą modeli pierwszego rzędu, drugiego rzędu i Korsmeyera – Peppasa. Przebieg 1839 pęcznienia dla hydrożelu AG przedstawiono na **Rys. 5.37.** Próbki AG/0.8PVP/0.8BOR





1840 i AG/0.8PVA/0.8BOR modyfikowano siarczanem amikacyny ze względu na ich 1841 najlepsze właściwości chłonne, a ich równowagowe pęcznienie i stałe kinetyczne 1842 zostały obliczone i porównane z ich wartościami przed procesem modyfikacji. Wykresy 1843 dla hvdrożeli największych wartościach pęcznienia 0 równowagowego 1844 (AG/0.8PVA/0.8BOR, AG/0.8PVA/0.8BOR/AM, AG/0.8PVP/0.8BOR i 1845 AG/0.8PVP/0.8BOR/AM) przedstawiono na Rys. 5.38. Parametry pęcznienia obliczone 1846 przy pomocy każdego z wymienionych modeli matematycznych dla wszystkich 1847 hydrożeli przedstawiono w Tabeli 5.8.



1849 **Rys. 5.37.** Eksperymentalny przebieg pęcznienia dla hydrożelu AG (kropki) i krzywe











**Rys. 5.38.** Eksperymentalny przebieg pęcznienia (kropki) dla hydrożeli:

1853 a) AG/0.8PVA/0.8BOR, b) AG/0.8PVA/0.8BOR/AM, c) AG/0.8PVP/0.8BOR, oraz d)

1854 AG/0.8PVP/0.8BOR/AM i krzywe dopasowane do modeli pierwszego rzędu, drugiego rzędu

i Korsmeyera – Peppasa

1855

1856

1857 Dodatek siarczanu amikacyny spowodował istotną różnicę w wartościach 1858 pęcznienia równowagowego (**Rys. 5.38**) tylko w przypadku hydrożelu zawierającego 1859 PVP. Dla próbki AG/0.8PVP/0.8BOR/AM pęcznienie równowagowe wyniosło 840,16 1860  $\pm$  10,49%, podczas gdy dla próbki niemodyfikowanej siarczanem amikacyny 1861 (AG/0.8PVP/0.8BOR) pecznienie równowagowe osiągneło  $938,71 \pm 5,34\%$ , biorac pod 1862 uwagę model nieliniowy drugiego rzędu. Z kolei, dla próbek zawierających PVA 1863 AG/0.8PVA/0.8BOR i AG/0.8PVA/0.8BOR/AM pecznienie równowagowe osiagnęło odpowiednio 1289,14  $\pm$  19,58% i 1301,71  $\pm$  35,70%. Uzyskane wartości nie różniły sie 1864 1865 istotnie, co oznacza, że dodatek siarczanu amikacyny nie wpłynął na proces pęcznienia 1866 hydrożelu zawierającego PVA.

1867 Wu i współpracownicyotrzymali hydrożele na bazie poli(glikolu etylenowego)
1868 (PEG) i poli(akryloamidu) (PAA) zmodyfikowane amikacyną lub kolistyną.





Przeprowadzone przez nich badania wykazały, że pierwszorzędowe grupy aminowe obecne we wspomnianych substancjach aktywnych mogą oddziaływać z grupami amidowymi obecnymi w łańcuchach polimeru PAA [231]. Podobna sytuacja może mieć miejsce w przypadku hydrożeli AG/0.8PVP/0.8BOR/AM. Grupy aminowe pochodzące z siarczanu amikacyny mogą oddziaływać poprzez wiązania wodorowe z atomami azotu obecnymi w łańcuchach PVP i tworzyć dodatkowe wiązania poprzeczne, co może skutkować zmniejszeniem pęcznienia równowagowego.

1876 Rys. 5.39 sporządzony na podstawie Tabeli 5.8 przedstawia zbiorcze 1877 porównanie kinetycznych parametrów pęcznienia, w zależności od rodzaju hydrożelu. 1878 Można zauważyć, że W<sub>eq</sub> otrzymane z modeli pierwszego i drugiego rzędu wykazują 1879 bardzo podobne tendencje. Oba modele pokazuja, że hydrożele zawierające PVA 1880 osiągnęły wyższe wartości W<sub>eq</sub> niż hydrożele zawierające PVP. Dodatkowo oba modele 1881 potwierdzają, że zbyt duża zawartość tetraboranu sodu (1,6% wag.) powoduje znaczny 1882 spadek pęcznienia równowagowegoWeg. Ponadto zaobserwowano, że zarówno dla modeli pierwszego, jak i drugiego rzędu, hydrożele charakteryzujące się wyższymi 1883 1884 parametrami równowagi pęcznienia zwykle wykazują niższe stałe kinetyczne K. Na przykład hydrożel AG/0.8PVA/0.8BOR wykazuje 1126,24 ± 10,39% równowagowego 1885 pęcznienia i K<sub>1</sub> wynosi  $0.0499 \pm 0.0022 \text{ min}^{-1}$ , podczas gdy AG/0.8PVP/0.8BOR osiąga 1886  $890,09 \pm 13,25\%$  W<sub>ea</sub>, a K<sub>1</sub> wynosi  $0,1612 \pm 0,0181$  min<sup>-1</sup> (model pierwszego rzędu, 1887 1888 Rys. 5.39a, 5.39b). Ten sam trend można zaobserwować w przypadku modelu 1889 kinetycznego drugiego rzędu. Głównym parametrem mającym silny wpływ na wartości 1890 stałych kinetycznych jest rodzaj polimeru syntetycznego (PVA lub PVP). Zarówno dla modeli pierwszego, jak i drugiego rzędu najwyższe wartości K<sub>1</sub> i K<sub>2</sub> można 1891 zaobserwować dla hydrożeli niezawierających polimerów syntetycznych (AG/0.8BOR, 1892 1893 AG/1.6BOR), a najniższe dla zawierających PVA. Wynik jest zgodny z kształtami 1894 krzywych pęcznienia z Rys. 5.36. Hydrożele zawierające PVA najszybciej osiągają 1895 równowagowy stan pęcznienia. Bardzo podobny trend można zaobserwować również 1896 dla wartości K<sub>KP</sub> obliczonych na podstawie modelu Korsmeyera – Peppasa. Można 1897 również stwierdzić, że zawartość tetraboranu sodu nie wpływa na wartości K<sub>KP</sub> 1898 dla próbek zawierających polimery syntetyczne.





### **Tabela 5.8**. Parametry pęcznienia uzyskane z różnych modeli matematycznych kinetyki pęcznienia hydrożeli

|                     | Kinetyka I rzędu                    |                                     |                | Kinetyka II rzędu    |   |                | Kinetyka Korsmeyera - Peppasa |                                      |                |
|---------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------|----------------------|---|----------------|-------------------------------|--------------------------------------|----------------|
| Symbol hydrożelu    | W <sub>eq</sub> [%]                 | K <sub>1</sub> [min <sup>-1</sup> ] | R <sup>2</sup> | W <sub>eq</sub> [%]  | K <sub>2</sub> [% <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ] ×<br>10 <sup>-4</sup> | R <sup>2</sup> | n                             | K <sub>KP</sub> [min <sup>-1</sup> ] | R <sup>2</sup> |
| AG                  | $791,11 \pm 28,76*$                 | 0,0691 ± 0,0141*                    | 0,9075         | $868,97 \pm 26,22*$  | $1,23 \pm 0,25*$  | 0,9668         | $0,\!2159\pm0,\!0111*$        | $0,\!3419 \pm 0,\!0169 *$            | 0,9928         |
| AG/0.8BOR           | $698,\!53\pm8,\!24$                 | $0,\!4189 \pm 0,\!0629$             | 0,9835         | 711,66 ± 7,27        | $15,\!40\pm3,\!53$  | 0,9909         | $0,\!0855 \pm 0,\!0126$       | $0,\!6574 \pm 0,\!0361$              | 0,9659         |
| AG/1.6BOR           | $542,\!75\pm7,\!53$                 | $0,\!4315\pm0,\!0787$               | 0,9773         | $553,\!94\pm6,\!56$  | $19,\!00 \pm 4,\!92$  | 0,9879         | $0,\!0869 \pm 0,\!0122$       | $0,\!6604\pm0,\!0348$                | 0,9695         |
| AG/0.4PVA/0.8BOR    | $1058, 16 \pm 16, 16$               | $0,\!0472\pm0,\!0034$               | 0,9887         | $1204,15 \pm 16,15$  | $0{,}52\pm0{,}04$   | 0,9958         | $0,\!2695\pm0,\!0355$         | $0,\!2749 \pm 0,\!0440$              | 0,9471         |
| AG/0.8PVA/0.8BOR    | 1126,24 ± 10,39                     | $0,0499 \pm 0,0022$                 | 0,9959         | 1289,14 ± 19,58      | $\textbf{0,}\textbf{49} \pm \textbf{0,}\textbf{04}$                       | 0,9951         | $0,2741 \pm 0,0428$           | 0,2664 ± 0,0514                      | 0,9272         |
| AG/0.8PVA/0.8BOR/AM | 1120,54 ± 7,27                      | $0,0415 \pm 0,0012$                 | 0,9983         | 1301,71 ± 35,70      | 0,39 ± 0,06   | 0,9873         | 0,2969 ± 0,0489               | $0,2430 \pm 0,0539$                  | 0,9159         |
| AG/0.4PVA/1.6BOR    | $609,\!24\pm6,\!41$                 | $0,\!0846 \pm 0,\!0054$             | 0,9918         | $665{,}66\pm5{,}03$  | $1,\!86\pm0,\!10$   | 0,9977         | $0,\!1905\pm0,\!0318$         | $0,\!4075\pm0,\!0573$                | 0,9374         |
| AG/0.8PVA/1.6BOR    | $\textbf{797,}01 \pm \textbf{6,}51$ | $0,\!0315\pm0,\!0010$               | 0,9982         | $964,\!49\pm33,\!42$ | $0,\!36\pm0,\!06$   | 0,9871         | $0,\!3572\pm0,\!0534$         | $0,\!1781 \pm 0,\!0436$              | 0,9238         |
| AG/0.4PVP/0.8BOR    | $722,\!39\pm15,\!13$                | $0,\!2469 \pm 0,\!0451$             | 0,9524         | $755,\!62\pm10,\!61$ | $5{,}26\pm0{,}87$   | 0,9855         | $0,1110 \pm 0,0088$           | $0,\!5856 \pm 0,\!0224$              | 0,9903         |
| AG/0.8PVP/0.8BOR    | 890,09 ± 13,25                      | 0,1612 ± 0,0181                     | 0,9778         | 938,71 ± 5,34        | <b>2,86 ± 0,16</b>  | 0,9979         | $0,1237 \pm 0,0172$           | $0,5631 \pm 0,0421$                  | 0,9696         |
| AG/0.8PVP/0.8BOR/AM | 806,04 ± 15,23                      | $0,2584 \pm 0,0434$                 | 0,9607         | 840,16 ± 10,49       | <b>5,17 ± 0,80</b>  | 0,9883         | 0,1077 ± 0,0079               | $0,5905 \pm 0,0204$                  | 0,9916         |
| AG/0.4PVP/1.6BOR    | $438,\!11\pm7,\!29$                 | $0,\!1528\pm0,\!0189$               | 0,9729         | $464,\!62\pm2,\!66$  | $5,\!20 \pm 0,\!28$   | 0,9979         | $0,1348 \pm 0,0146$           | $0,\!5169 \pm 0,\!0328$              | 0,9802         |
| AG/0.8PVP/1.6BOR    | 537,35 ± 10,12                      | $0,\!2808 \pm 0,\!0490$             | 0,9604         | 558,54 ± 7,31        | $8,\!64 \pm 1,\!48$   | 0,9868         | $0,1041 \pm 0,0084$           | $0,6024 \pm 0,0218$                  | 0,9902         |





1901 \* Parametry podane w formie wartości średnich wraz z błędem standardowym (n = 3)





Przykładowo dla AG/0.8PVP/0.8BOR  $K_{KP}$  osiągnęło 0,5631 ± 0,0421 min<sup>-1</sup>, natomiast dla AG/0.8PVP/1.6BOR jest równe 0,6024 ± 0,0218 min<sup>-1</sup> i wyniki te nie różnią się statystycznie. Co więcej, dla wszystkich badanych hydrożeli wartości n wynoszą poniżej 0,5, co oznacza, że pęcznienie odbywa się według mechanizmu dyfuzji quasi – Ficka [98]. Model Korsmeyera – Peppasa charakteryzuje również korelacja między parametrami n i K<sub>KP</sub>. Próbki o niższych parametrach n wykazują wyższe stałe K<sub>KP</sub>, co pozwala na szybsze osiągnięcie pęcznienia równowagowego. Próbki zawierające PVA miały wartości n najbliższe 0,5 (0,2695 ± 0,0355 – 0,3572 ± 0,0534) (**Rys. 5.39**), co jest charakterystyczne dla procesu dyfuzji Ficka [96]. Warto dodać, że wszystkie wybrane modele kinetyczne wykazywały wysoki poziom dopasowania do danych eksperymentalnych (**Rys. 5.37, 5.38** i **Tabela 5.8**), ponieważ dla wszystkich typów hydrożeli współczynniki regresji R<sup>2</sup> osiągały wartości powyżej 0,9.







Rys. 5.39. Porównanie kinetycznych parametrów pęcznienia hydrożeli: a) W<sub>eq</sub>(I rzędu), b) K<sub>1</sub> (I rzędu), c) W<sub>eq</sub>(II rzędu), d) K<sub>2</sub> (II rzędu), e) n (model Korsmeyera-Peppasa) i f) K<sub>KP</sub>(model Korsmeyera-Peppasa) w zależności od zawartość tetraboran sodu dla wszystkich zsyntetyzowanych hydrożeli

Na podstawie badań pęcznienia do wykorzystania w absorpcyjnej warstwie B będą rozważane hydrożele bazujące na agarze, PVA i tetraboranie sodu, gdyż ich pęcznienie następuje w sposób stopniowy, w przeciwieństwie do hydrożeli zawierających PVP, które pęcznieją znacznie gwałtowniej. Stopniowe pęcznienie jest




procesem, który powinien zagwarantować stopniowe uwalnianie się substancji aktywnej.

Badanie gęstości ( $d_p$ ), średniej masy cząsteczkowej między węzłami sieci ( $M_c$ ) i gęstości usieciowania ( $\rho_c$ )

Gęstość hydrożeli w stanie uwodnionym zmierzono w celu obliczenia średniej masy cząsteczkowej między węzłami sieci oraz gęstości usieciowania hydrożeli. Wyniki tych pomiarów i obliczeń przedstawiono w **Tabeli 5.9**. Gęstość otrzymanych próbek hydrożelu mierzona w temperaturze 20 °C mieściła się w zakresie od 0,85 ± 0,03 do 1,27 ± 0,15  $\frac{g}{cm^3}$ , co wynika z wysokiej zawartości wody w hydrożelach, której gęstość w 20 °C wynosi 0,9982  $\frac{g}{cm^3}$  [159]. Zauważono również, że modyfikacja substancją czynną (AM) powoduje nieznaczne zwiększenie gęstości zarówno w przypadku hydrożeli zmodyfikowanych PVP jak i PVA.

Średnia masa cząsteczkowa łańcuchów między węzłami sieci (Mc) oraz gęstość sieciowania ( $\rho_c$ ) stanowią miarę stopnia usieciowania hydrożelu i są z sobą bezpośrednio powiązane zależnością odwrotnie proporcjonalną (**Równanie 13**). Wraz ze wzrostem Mc spada parametr  $\rho_c$ , co można zaobserwować podczas analizy **Tabeli 5.9**. Warto także dodać, że wspomniane parametry są wyznaczane na podstawie badań pęcznienia równowagowego. Zarówno w uzyskanych wynikach jak i innych pracach naukowych dostępnych w literaturze [56], [201], [224], [233] zauważono, że wyższy stopień usieciowania( $\rho_c$ ) skutkuje niższymi zdolnościami chłonnymi hydrożelu.

Średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci (M<sub>c</sub>) jest wyraźnie mniejsza dla próbek zawierających 1,6% wag. % tetraboranusoduw porównaniu z próbkami zawierającymi 0,8% wag. % tetraboran sodu, podczas gdy dla gęstości usieciowania można zaobserwować odwrotny trend. Zjawisko to spowodowane jest sieciującym efektemtetraboran sodu. Większa zawartość tetraboran sodu powoduje zwiększenie ilości węzłów sieci matrycy polimerowej, a tym samym zmniejszenie ilości wolnej przestrzeni zdolnej do magazynowania wody [224], [234].





Ponadto, we wszystkich próbkach dodatek PVP i PVA spowodował wzrost średniej masy cząsteczkowej między węzłami sieci (M<sub>c</sub>) i jednocześnie zmniejszenie gęstości usieciowania (p<sub>c</sub>). W przypadku hydrożeli zawierających PVP wiaże się to z jego silnie hydrofilowym charakterem, wynikającym z obecności ugrupowań laktamowych w jego strukturze, które poprzez atom tlenu wykazują zdolność do tworzenia wiązań wodorowych z cząsteczkami wody [224]. Z kolei dodatek PVA zapewnia obecność dodatkowych grup hydroksylowych, co również pozwala na polepszenie zdolności chłonnych matrycy hydrożelowej [235]. Można również zaobserwować, że hydrożele charakteryzujące się wyższymi parametrami pęcznienia równowagowego zawsze wykazują proporcjonalnie wyższe średnie masy cząsteczkowe między wezłami sieci i mniejsze gestości usieciowania. Na przykład, hydrożele AG/0.8PVA/0.8BOR osiągając wysoką wartość pęcznienia równowagowego (Weg) na poziomie 1126,24 ± 10,39%, przy średniej masie cząsteczkowej między węzłami sieci (M<sub>c</sub>) wynoszącej 1607,10 ± 99,89  $\frac{g}{mol}$  i gęstości usieciowania( $\rho_c$ ) równej 0,73 ± 0,04  $\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$ , podczas gdy dla hydrożelu AG/0.8PVP/0.8BOR o niższym pęcznieniu równowagowym ( $W_{eq}$ ) wynoszącym 797,01 ± 6,51%, masa łańcuchów między punktami sieciowania (M<sub>c</sub>) osiąga 463,57  $\pm$  45,63  $\frac{g}{mol}$  przy gęstości usieciowania ( $\rho_c$ ) równej 2,02  $\pm$  0,19  $\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$ . Podobna zależność zaobserwowana została także przez Wongai i jego współpracowników [201].

| Symbol hydrożelu | $\mathbf{d}_{p}\left[\frac{\mathbf{g}}{\mathbf{cm}^{3}}\right]$ | $M_{c}\left[\frac{g}{mol}\right]$ | $ ho_c \left[ \frac{mol}{dm^3} \right]$ |
|------------------|---|-----------------------------------|---|
| AG               | 0,87 ± 0,02*  | 445,59 ± 27,75*                   | $1,96 \pm 0,11*$                        |
| AG/0.8BOR        | $0,\!90\pm0,\!09$   | 385,21 ± 30,47                    | $2,35 \pm 0,17$                         |
| AG/1.6BOR        | $0,\!99\pm0,\!04$   | 323,99 ± 24,53                    | $3,07 \pm 0,22$                         |
| AG/0.4PVA/0.8BOR | $1,\!08\pm0,\!07$   | 1141,46 ± 73,59                   | $0,\!95\pm0,\!06$                       |

**Tabela 5.9.** Gęstość (dp), średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci (Mc) oraz gęstość usieciowania (ρc) dla hydrożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych siarczanem amikacyny





| AG/0.8PVA/0.8BOR    | $\textbf{1,}17 \pm \textbf{0,}\textbf{05}$ | 1607,10 ± 99,89        | $\textbf{0,73} \pm \textbf{0,04}$ |
|---------------------|--|------------------------|-----------------------------------|
| AG/0.8PVA/0.8BOR/AM | $1,\!27\pm0,\!15$                          | 1867,76 ± 144,38       | 0,68 ± 0,05                       |
| AG/0.4PVA/1.6BOR    | $0,\!90 \pm 0,\!03$                        | 291,44 ± 26,38         | $3,10 \pm 0,26$                   |
| AG/0.8PVA/1.6BOR    | $0,93 \pm 0,01$                            | $463,\!57\pm45,\!63$   | $2,02\pm0,19$                     |
| AG/0.4PVP/0.8BOR    | $0,92 \pm 0,11$                            | $428,\!79\pm37,\!59$   | $2,\!16\pm0,\!19$                 |
| AG/0.8PVP/0.8BOR    | $\textbf{0,85} \pm \textbf{0,03}$          | 463,99 ± 30,57         | $1,\!84\pm0,\!12$                 |
| AG/0.8PVP/0.8BOR/AM | 0,99 ± 0,03                                | 628,32 ± 35,74         | 1,58 ± 0,09                       |
| AG/0.4PVP/1.6BOR    | $1,\!00\pm0,\!04$                          | $240,\!33 \pm 16,\!86$ | $4,\!17 \pm 0,\!28$               |
| AG/0.8PVP/1.6BOR    | $1,\!02\pm0,\!06$                          | $350,\!48 \pm 26,\!56$ | $2,\!92\pm0,\!21$                 |

\* Parametry podane w formie wartości średnich wraz z odchyleniem standardowym (n = 3)

#### Badanie zawartości wody wolnej w hydrożelach

Wyniki dotyczące zawartości wody wolnej w hydrożelach po syntezie zestawiono w Tabeli 5.10. Wartości zawartości wody mieszczą się w zakresie dla hydrożelu AG/08.PVP/0.8BOR/AM do od 90.35±0.67% 97,40±0,03% dla hydrożelu AG/0.8PVA/0.8BOR/AM. Średnie wartości dla hydrożeli zawierających PVA są wyższe niż dla hydrożeli z PVP. Dodatek siarczanu amikacyny ma niewielki wpływ na zawartość wody w hydrożelu, co można pominąć biorąc pod uwagę wartości odchylenia standardowego. Wartości powyżej 90% wynikają z budowy hydrożeli, gdzie polimer tworzy trójwymiarową sieć, a cząsteczki wody znajdują się pomiędzy siatką polimerową, stanowiąc większość masy hydrożelu. Dla porównania, Appel i inni opisali preparat hydrożeli o ultrawysokiej zawartości wody, zawierających w swoim składzie również PVA, który osiągnął zawartość wody do 99,7%. Wysoka zawartość wody jest ważną cechą ze względu na pożądane podobieństwo hydrożeli do tkanek miękkich człowieka [236].





Tabela 5.10. Średnia równowagowa zawartość wody w hydrożelach wraz z odchyleniem standardowym

| Symbol bydrożolu    | Równowagowa        | Odchylenie      |
|---------------------|--------------------|-----------------|
| Symbol nyurozetu    | zawartość wody [%] | standardowe [%] |
| AG/0.8PVP/0.8BOR    | 93,77              | 1,20            |
| AG/0.8PVP/0.8BOR/AM | 90,35              | 0,67            |
| AG/0.8PVA/0.8BOR    | 97,34              | 0,06            |
| AG/0.8PVA/0.8BOR/AM | 97,40              | 0,03            |

## Badanie struktury chemicznej hydrożeli (FTIR)

Widma FTIR hydrożeli niezmodyfikowanych i zmodyfikowanych siarczanem amikacyny przedstawiono kolejno na **Rys. 5.40** i **5.41**.



**Rysunek 5.40.** Widma FTIR dla próbek hydrożeli zawierających różne ilości agaru i: a) tetraboranu sodu, b) PVA i tetraboranu sodu oraz c) PVP i tetraboranu sodu







**Rys. 5.41.**Widma FTIR dla siarczanu amikacyny oraz próbek hydrożeli: AG/0,8PVP/0,8BOR i AG/0,8PVP/0,8BOR/AM

Widma FTIR agaru użytego do syntezy hydrożeli oraz hydrożelu AG (**Rys. 5.40a**) wykazały szerokie pasmo przy 3348 cm<sup>-1</sup>, co przypisano drganiom rozciągającym grup O-H (vO-H) oraz drganiom walencyjnym grup N-H (vO-H) [164]. Słabe pasmo drgań vC-H przy 2905 cm<sup>-1</sup>odpowiada grupie metylowej związanej z tlenem [238]. Pasmo o średniej intensywności przy 1643 cm<sup>-1</sup> przypisano drganiom vC=O (I pasmo amidowe) i drganiom zginającym  $\delta$ N-H<sub>2</sub> (II pasmo amidowe), które pochodzą ze skoniugowanych wiązań peptydowych obecnych w agarze [238], [239]. Drgania rozciągającepochodzące od wiązania estrowego grupą siarczanową można zaobserwować przy 1372 cm<sup>-1</sup>. Obecność reszt siarczanowych zależy od metody ekstrakcji zastosowanej do produkcji agaru z różnych gatunków alg [237]. Pasma obecne przy 1151 cm<sup>-1</sup> i 1039 cm<sup>-1</sup> przypisano odpowiednio drganiom vC-O pochodzącym od eteru i alkoholu [239]. Przy 1064 cm<sup>-1</sup> i 932 cm<sup>-1</sup> można zaobserwować pasma związane z mostkami 3,6-anhydro-galaktozowymi [237], [238], [240]. Na podstawie **Rys. 5.40a** można stwierdzić, że widma spektroskopowe agaru użytego do syntezy oraz hydrożelu AG nie różnią się od siebie, co wskazuje, że proces jego wytwarzania nie wpłynął na strukturę chemiczną agaru. Z kolei dodatek





tetraboranu sodu, w przypadku widm hydrożeli AG/0.8BOR i AG/1.6BOR, spowodował poszerzenie pasma związanego z drganiami rozciągającymi grup O-H pochodzących od agaru oraz przesunięcie maksimum absorpcji z 3348 cm<sup>-1</sup> do 3335 cm<sup>-1</sup>. Przesunięcie pasma do niższych liczb falowych może być spowodowane tworzeniem się wiązań wodorowych w strukturze hydrożelu [241] pomiędzy grupami hydroksylowymi obecnymi w łańcuchach polimerowych a anionami boranowymi [224]. Można zatem potwierdzić sieciujący efekt tetraboranu sodu w kontakcie z roztworem wodnym agaru.

Wszystkie hydrożele otrzymane przez zmieszanie agaru z PVA i usieciowane tetraboranem sodu wykazują pasma absorpcji charakterystyczne dla agaru oraz dodatkowe pochodzace od PVA (Rys. 5.40b). Dla hydrożeli AG/0.4PVA/0.8BOR i AG/0.8PVA/0.8BOR można zaobserwować szerokie pasmo drgań rozciągających grup O-H (vO-H), pochodzących zarówno z agaru, jak i PVA, przy 3337 cm<sup>-1</sup>, natomiast dla AG/0.4PVA/1.6BOR i AG/0.8PVA/1.6BOR to samo pasmo można zlokalizować przy 3333 cm<sup>-1</sup>. Przesunięcie maksimum piku w kierunku niższych liczb falowych (w porównaniu hydrożelem AG) może wskazywać na powstawanie wiazań wodorowych [241]. Ich zawartość wzrosła dla hydrożeli zawierających 1,6% wag. tetraboranu sodu, czego potwierdzeniem może być poszerzenie wspomnianego pasma w porównaniu z hydrożelami zawierającymi tylko 0,8% wag. tetraboranu sodu. Ponadto, przv 1640 cm<sup>-1</sup> można zaobserwować pik związany z drganiami vC=O grup octanowych [56], [242]. Pasmo przy ok. 1600 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom od deformacyjnymδH-O-H pochodzącym wody uwięzionej w strukturze hydrożelu[243]. Przy 1415 cm<sup>-1</sup> zlokalizować można drgania zginające  $\delta CH_2$  [242], a pasma drgań wachlarzowych yC-H przy 1320 cm<sup>-1</sup> [241]-[243]. Sygnał drgań rozciągających vC-O pochodzący od grup octowych obecnych w łańcuchach PVA zaobserwować można przy 1250 cm<sup>-1</sup>. Pasmo widoczneprzy ok. 1120 cm<sup>-1</sup> potwierdziło obecność drgań rozciągających vC-O wiązania pochodzącego od alkoholu, świadczącego o występowaniu krystalicznych domen w PVA, a pasmo przy ok. 1080  $cm^{-1}$  wynika z drgań zginających  $\delta$ O-H, odpowiadających amorficznym obszarom PVA





[243]. Przy liczbie falowej ok. 830 cm<sup>-1</sup>występuje pasmo związane z drganiami rozciągającymi wiązania C-C (vC-C) [241].

Pomiędzy widmami spektroskopowymi przedstawionymi na **Rys. 5.40a i 5.40b** można dostrzec liczne różnice. Pasma vO-H przy ok. 3500-3100 cm<sup>-1</sup> były mniej intensywne w przypadku hydrożeli zawierających tetraboran sodu (w porównaniu z hydrożelem AG), co świadczy o tym, że część grup hydroksylowych OH z agaru i PVA została wykorzystana do utworzenia wiązań z tetraboranem sodu. Ponadto, maksymalna absorpcja tego pasma dla hydrożeli jest przesunięta względem pasma dla agaru i PVA. Można zatem przyjąć, że sieciowanie hydrożelu zachodziło zarówno fizycznie (poprzez wiązania wodorowe), jak i chemicznie, o czym świadczy zarówno przesunięcie, jak i zmniejszenie intensywności pasma vO-H w otrzymanych hydrożelach. Obecność drgań vB-O-C przy 1290 i 1130 cm<sup>-1</sup> jest dodatkowym potwierdzeniem sieciowania chemicznego dla wszystkich hydrożeli zawierających BOR. Bardzo podobne wyniki uzyskali Koysuren i inni podczas badań nad hydrożelami na bazie PVA i tetraboranu sodu[244]. Podobną reakcję zaobserwowano również w przypadku zespołu badawczego Yanase, przy czym intensywność pasma vB-O-C wzrastała wraz ze wzrostem zawartości czynnika sieciującego [245].

Widma hydrożeli zawierających PVP (**Rys. 5.40c**) również wykazywały charakterystyczne pasmo w zakresie 3500 - 3100 cm<sup>-1</sup>, co odpowiada drganiom vO-H. Ponadto każdy hydrożel z **Rys. 5.40c** posiadał drgania rozciągające vC-H przy 2900 cm<sup>-1</sup> pochodzące od PVP i agaru. Zaobserwować można również I i II pasmo amidowe przy ok. 1600 cm<sup>-1</sup> i 1450 cm<sup>-1</sup>. Drgania deformacyjne pozapłaszczyznowe  $\gamma$ CH2 odpowiadają wartości szczytowej około1400 cm<sup>-1</sup>. Pik przy 1100 cm<sup>-1</sup> odpowiada drganiom rozciągającym vC-N [246].

Dla siarczanu amikacyny (**Rys. 5.41**) zaobserwować można szerokie pasmo w zakresie 3500 - 3100 cm<sup>-1</sup> od drgań vOH, a także wyraźny pik przy 3300 cm<sup>-1</sup>pochodzącyod wibracji vN-H. Natomiast pasmo przy 2916 cm<sup>-1</sup> odpowiadało drganiom vC-H. Pasmo to było również obecne na widmach hydrożelu AG/0.8PVP/0.8BOR/AM. Drgania przy 1638 cm<sup>-1</sup> i 1592 cm<sup>-1</sup> związane są odpowiednio z obecnością pierwszorzędowej aminy [247] i ugrupowania





aminoglikozydowego [248]. Ich obecność zarówno na widmach siarczanu amikacyny, jak i hydrożelu modyfikowanego AM (**Rys. 5.41**) dowodzi braku interakcji między grupami aminowymi leku a łańcuchami polimerowymi hydrożelu [247].

## Badanie kąta zwilżania, energii powierzchniowej i pracy adhezji

Katy zwilżania (**Rys. 5.42 i 5.43**), energie powierzchniowe i prace adhezji dla hydrożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych siarczanem amikacyny zestawiono w Tabeli 5.11. Otrzymane wartości katów zwilżania mieszczą się w zakresie od  $26,70 \pm 3,74^{\circ}$  (dla próbki o zawartości 0,8% wag. % PVP i 0,8% wag. % tetraboranu sodu) do  $40,50 \pm 3,921^{\circ}$  (dla próbki o zawartości 0,8% wag. % PVA i 0,8% wag. % tetraboranu sodu). Można także zauważyć, że wartości kąta zwilżania są znacząco wyższe dla hydrożeli z dodatkiem PVA niż w przypadku hydrożeli zawierających PVP. Dopoisać wartości ile dla pva i pvp Ponadto, modyfikacja siarczanem amikacyny nie wpłynęła na wartości kąta zwilżania w przypadku obu wspomnianych próbek, a niewielkie różnice mieszczą się w granicach odchyleń standardowych. Energia powierzchniowa i praca adhezji są ściśle związane z wartościami kata zwilżania. Im wiekszy kat zwilżania, tym mniejsza praca adhezji i mniejsza energia powierzchniowa. Wartości energii powierzchniowej mieszczą się w przedziale od  $40,41 \pm 1,71 \text{ mJ/m}^2$  do  $45,74 \pm 1,65 \text{ mJ/m}^2$ . natomiast praca adhezji osiąga wartości od  $89,37 \pm 2,30 \text{ mJ/m}^2$  do  $96,07 \pm 1,95 \text{ mJ/m}^2$ . Oczekiwana wartość kata zwilżania powinna być mniejsza niż 90°, co świadczy o hydrofilowym charakterze badanej powierzchni. Hydrofilowość jest ważną cechą hydrożeli do zastosowań opatrunkowych, ponieważ pozwala na wchłanianie wysięku z rany i zapewnia wilgotne środowisko gojenia się rany. Należy zaznaczyć, że im mniejszy jest kąt zwilżania, tym bardziej hydrofilowa jest powierzchnia materiału. Z Tabeli 5.11 wynika, że próbki z dodatkiem PVP charakteryzują się bardziej hydrofilową powierzchnią, co w efekcie pozwala na szybsze wchłanianie cieczy. Badania przeprowadzone przez Ragne i współpracowników [249] wykazały, że hydrożel wykonany z PVP wykazywał wyższe właściwości pęcznienia równowagowego w wodzie (103%) w porównaniu z hydrożelem bazującym na PVA (63%) po 300 godzinach testów. Ponadto kompatybilna matryca polimerowo-hydrożelowa wykonana z połączonych PVA i PVP





(50/50 wagowo) wykazała równowagową sorpcję wody równą 84%. Wyniki te pozwalają stwierdzić, że wyższa zawartość PVP w matrycy polimerowo-hydrożelowej może poprawić właściwości sorpcyjne wody. Z drugiej strony, otrzymane wyniki pęcznienia równowagowego (**Rysunek 5.39**) informują, że hydrożele na bazie agaru z dodatkiem PVP wykazują mniejsze wartości pęcznienia równowagowego $W_{eq}$  niż hydrożele zawierające PVA, ale wszystkie stałe kinetyczne (K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> i K<sub>KP</sub>) były znacząco wyższe dla próbek zawierających w składzie PVP. Można zatem stwierdzić, że mniejszy kąt zwilżania próbek zawierających PVP powoduje szybsze osiągnięcie stanu równowagi, ale nie powoduje wzrostu równowagowej chłonności wody.

**Tabela 5.11.** Kąt zwilżania, energia powierzchniowa i praca adhezji dla hydrożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych siarczanem amikacyny

| Symbol hydrożelu    | Kąt zwilżania<br>[°]                                 | Energia<br>powierzchniowa<br>[mJ/m <sup>2</sup> ] | Praca adhezji<br>[mJ/m <sup>2</sup> ] |
|---------------------|--|---|---------------------------------------|
| AG/0.8PVP/0.8BOR    | $26,70 \pm 3,74$                                     | $45,74 \pm 1,65$                                  | 96,07 ± 1,95                          |
| AG/0.8PVP/0.8BOR/AM | $\textbf{29,}\textbf{48} \pm \textbf{0,}\textbf{85}$ | $44,\!83\pm0,\!31$                                | $95,02\pm0,37$                        |
| AG/0.8PVA/0.8BOR    | $40,\!50\pm3,\!92$                                   | $40,\!41 \pm 1,\!71$                              | 89,37 ± 2,30                          |
| AG/0.8PVA/0.8BOR/AM | 39,45 ± 2,78   | $40,87 \pm 1,18$                                  | $89,99 \pm 1,55$                      |



**Rys. 5.43.** Pomiary kąta zwilżania dla: a) AG/0,8PVA/0,8BOR i b) AG/0,8PVA/0,8BOR/AM

## Badanie własciwości antybakteryjnych hydrożeli

Na podstawie analizy wcześniej zebranych wyników, przede wszystkim dotyczących właściwości sorpcyjnych wody, do badań mikrobiologicznych wybrano hydrożele AG/0.8PVA/0.8BOR, AG/0.8PVA/0.8BOR/AM, AG/0.8PVP/0.8BOR oraz AG/0.8PVP/0.8BOR/AM. **Rys. 5.44** przedstawia wartości OD<sub>600</sub> otrzymane w trakcie badań prowadzonych na szczepach *S. epidermidis* (szczep ATCC 35984) i *E. coli* (szczep ATCC 25922). Wartości gęstości optycznej mierzono po 16 godzinach hodowli dla odpowiednich kontroli obojętnych (hodowle *S. epidermidis* i *E. coli* rosnące na podłożu LB, oznaczone na **Rys. 5.44** jako Kontrola neutralna), próbki niemodyfikowane siarczanem (VI) amikacyny (AG/0.8PVA/0.8BOR i





AG/0.8PVP/0.8BOR) oraz odpowiadające im próbki modyfikowane siarczanem (VI) amikacyny (AG/0,8PVA/0,8BOR/AM i AG/0,8PVP/0,8BOR/AM).



**Rys. 5.44.** Aktywność antybakteryjna przeciwko *S. epidermidis* (szczep ATCC 35984) oraz *E. coli* (szczep ATCC 25922) wybranych warstw hydrożelowych

Obie kontrole osiągnęły  $2,58 \pm 0,04$  i  $2,58 \pm 0,01$  OD600 odpowiednio dla szczepów S. epidermidis i E. coli. Biorąc pod uwagę badanie aktywności przeciwko S. epidermidis, dla próbek AG/0.8PVA/0.8BOR i AG/0.8PVP/0.8BOR wartość OD<sub>600</sub> wyniosła odpowiednio 2,61  $\pm$  0,06 i 2,52  $\pm$  0,03, co dowodzi, że hydrożele niemodyfikowane siarczanem amikacyny nie wykazują właściwości antybakteryjnych aktywność przeciwko S. epidermidis. Podobny trend można zaobserwować dla wspomnianych próbek przeciwko szczepowi E. coli, gdzie wartości OD<sub>600</sub> osiągneły  $2,64 \pm 0,02$  dla AG/0.8PVA/0.8BOR i  $2,58 \pm 0,03$  dla AG/0.8PVP/0.8BOR. Ponadto, próbki niemodyfikowane siarczanem amikacyny nie zawierają w swojej strukturze związków, dodatkowo powodować które mogłyby wzrost szczepów S. epidermidisiE. coli w porównaniu z obiema próbami kontrolnymi.Na podstawie Rys. 5.44 można również stwierdzić, że warstwy hydrożelowe modyfikowane siarczanem amikacyny wykazują właściwości antybakteryjne wobec obu badanych szczepów bakteryjnych. Wartości OD<sub>600</sub> dla próbek AG/0.8PVA/0.8BOR/AM i AG/0.8PVP/0.8BOR/AM osiggnely odpowiednio  $1,18 \pm 0,08$  i  $1,26 \pm 0,13$ , biorac pod





uwagę względem szczepu S. epidermidis. Oznacza to, że podczas testu siarczan amikacyny uwolniony z obu wymienionych próbek hydrożelu w podobnym stopniu hamował wzrost bakterii. W przypadku badania przeciwko szczepowi E. coli badane modyfikowane siarczanem amikacyny wykazały wyższą aktywność próbki przeciwbakteryjną, ponieważ wartości  $OD_{600}$ osiagneły 0,53  $\pm$ 0,02 (AG/0.8PVA/0.8BOR/AM) i 0,49 ± 0,03 (AG/0.8PVP /0.8BOR/AM). Wartości OD600 dla próbek modyfikowanych AM zawierających różne polimery syntetyczne (PVA lub PVP) nie różnia się istotnie dla obu szczepów S. epidermidis i E. coli. Można zatem stwierdzić, że rodzaj syntetycznego polimeru użytego do syntezy hydrożeli nie wpływa znacząco na aktywność przeciwbakteryjną warstw hydrożelowych wobec obu badanych bakterii. Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za działanie antybakteryjne matryc hydrożelowych jest obecność siarczanu amikacyny. W literaturze potwierdzono wrażliwość S. epidermidis i E. coli na siarczan amikacyny [203].

Badanie uwalniania siarczanu (VI) amikacyny z hydrożeli w warunkach in vitro (HPLC)

## <u>Kalibracja</u>

Uzyskana krzywa kalibracyjna AMI charakteryzowała się liniowością ( $R^2 = 0,998$ ) w rozpatrywanym zakresie stężeń : 2 – 50 µg/ml. Uśrednione równanie krzywej kalibracyjnej (n = 3) przedstawia się następująco: y\* = 1,728x + 0,6388 (gdzie, \*y – log<sub>10</sub>(pole powierzchni piku); x – log<sub>10</sub> (stężenie)). Odchylenie standardowe współczynnika nachylenia krzywej kalibracyjnej (Sa) oraz odciętej (Sb), wynosiły odpowiednio: 0,010 oraz 0,0088. Stabilność między nastrzykami roztworów wzorów, wyrażona jako współczynnik zamienności (wyznaczony na podstawie pól powierzchni pików) nie przekraczała 3%. Ze względu na nieliniowy charakter odpowiedzi detektora ELSD, wartości granic detekcji (LOD) oraz 0,008 SI – 10 dla LOQ, gdzie S/N – stosunek sygnału do szumu): LOD = 1 µg/ml, LOQ = 2 µg/ml.



#### Analiza próbek rzeczywistych (materiałów polimerowych)

W **Tabeli 5.12** zestawiono wyniki analiz uwalniania AMI z hydrożeli HB\_1 i HB\_2. Na **Rys. 5.45** przedstawiono skumulowane uwalnianie AMI z warstw hydrożelowych w formie wykresów zależności stężenia od czasu.

**Tabela 5.12**. Skumulowane uwalnianie AMI (CR) z hydrożeli wraz z odchyleniem standardowym (SD) (n = 3).

| Próbka                     | Czas   | $CR \pm SD^*$     |
|----------------------------|--------|-------------------|
| Opis                       |        | [mg AMI/g         |
|                            |        | hydrożelu]        |
| Hydrożel HB_1              | 5 min  | $0,194 \pm 0,064$ |
| (1 mg AMI / 1 g hydrożelu) | 15 min | $0,230 \pm 0,068$ |
|                            | 30 min | $0,270 \pm 0,069$ |
|                            | 1 h    | 0,334 ± 0,079     |
|                            | 3 h    | $0,426 \pm 0,073$ |
| Hydrożel HB_2              | 5 min  | 0,39 ± 0,12       |
| (2 mg AMI / 1 g hydrożelu) | 15 min | 0,49 ± 0,12       |
|                            | 30 min | 0,59 ± 0,11       |
|                            | 1 h    | 0,699 ± 0,086     |
|                            | 3 h    | 0,86 ± 0,10       |



**Rys. 5.45**. Wykres zależności skumulowanego uwalniania AMI z badanych hydrożeli HB\_1 oraz HB\_2 w zależności od czasu





Na podstawie danych zawartych w **Tabeli 5.12** oraz na **Rys. 5.45** stwierdzono, że po 360 min badania zarówno z hydrożelu HB\_1 jak i HB\_2 uwolniło się średnio ok. 43% zawartego siarczanu (VI) amikacyny. Wyższe wartości uwolnione w przypadku hydrożelu HB\_2 wynikają wyższej zawartości dodanego siarczanu (VI) amikacyny w trakcie syntezy (2 mg AMI/1g hydrożelu) w stosunku do hydrożelu HB\_1 (1 mg AMI/1g hydrożelu). Należy zwrócić uwagę, że amikacyna w obu przypadkach uwalniana jest w sposób kontrolowany i stopniowy. Krzywe uwalniania amikacyny są bardzo zbliżone do krzywych pęcznienia hydrożeli zawierających w swoim składzie PVA (Rys. 4.32 a i b). Można zatem wnioskować, że profil pęcznienia hydrożelu ma istotny wpływ na profil uwalniania zawartej w nim amikacyny.

5.2.5. Warstwa absorpcyjna typu B (matryca drukowana w 3D FDM pokryta hydrożelem B)

W wyniku połączenia warstwy absorpcyjnej typu B (matryca porowata typu B zanurzona w hydrożelu typu B), warstwy zewnętrznej oraz wartstwy adhezyjnej uzyskano hybrydowe opatrunki HO\_1 oraz HO\_2 zawierające hydrożele o różnych stężeniach siarczanu amikacyny (0,1% wag. dla HO\_1 i 0,2 % wag. dla HO\_2). Przygotowane zostały one na potrzeby badań cytotoksyczności, proliferacji oraz migracji komórek i charakteryzowały się stabilnością w temperaturze 4 °C po hermetycznym zapakowaniu. Wykonane hybrydowe opatrunki umieszczone w płytce dołkowej do badań zapezentowano na **Rys. 5.46**.







**Rys. 5.46**. Opatrunki powstałe z połączenia wszystkich warstw, umieszczone w płytce testowej *Badanie cytotoksyczności i proliferacji* 

Ocenę cytotoksyczności (testy LDH) i proliferacji (testy XTT) hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 wobec komórek fibroblastów 46BR.1N, fibroblastów pierwotnych, keranocytów HaCaT oraz komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASCs) przedstawiono kolejno na **Rys. 5.47** oraz **Rys. 5.48**. Przeprowadzone testy LDH nie wykazały cytotoksyczności badanych opatrunków HO\_1 oraz HO\_2 wobec żadnych z testowanych komórek w stosunku do kontroli (K).



**Rys. 5.47**. Badania cytotoksyczności hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 wobec wybranych ludzkich komórek (\*różnica istotna statystycznie:  $\alpha = 0,05$ , n = 3, test U-Manna Whitneya).





W przypadku badań proliferacji przeprowadzone testy XTT wykazały, że dla obu badanych opatrunków HO\_1 oraz HO\_2 ich ekstrakty we wszystkich badanych stężeniach powodowały zahamowanie proliferacji fibroblastów 46BR.1N o ok. 50%. Dla pozostałych badanych komórek zaobserwowano już słabszy efekt hamujący. Np. wobec komórek keranocytów HaCaT 100% - owe ekstrakty znad obu rodzajów opatrunków (HO\_1 oraz HO\_2) wykazywały działanie hamujące ich proliferację na poziomie ok. 30%, a w przypadku fibroblastów pierwotnych 100% - owe ekstrakty znad obu rodzajów opatrunków hamowały poroliferację o ok. 20% w stosunku do kontroli (K). W stosunku do komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASCs) 100% - owe ekstrakty znad obu rodzajów opatrunków wykazywały efekt podnoszący proliferację w stosunku do kontroli (K) o ok. 20%. Ważną obserwacją jest również fakt, że badanie LDH oraz XTT nie wykazało istotnych różnic w oddziaływaniu na komórki ludzkie pomiędzy opatrunkiem HO\_1 a opatrunkiem HO\_2. Oznacza to, że w badanym zakresie stężeń (0,1 i 0,2 % wag.) ilość zawartego w opatrunku siarczanu amikacyny nie wpływa na cytotoksycznośc i proliferację wobec badanych komórek ludzkich.



**Rys. 5.48**. Badania wpływu hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 na proliferację wybranych ludzkich komórek (\*różnica istotna statystycznie:  $\alpha = 0,05$ , n = 3, test U-Manna Whitneya).





#### Ocena wpływu opatrunków na migrację komórek skórnych i macierzystych

Analizę wpływu hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 na migrację komórek fibroblastów 46BR.1N, fibroblastów pierwotnych, keranocytów HaCaT oraz komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASCs) przedstawiono kolejno na **Rys. 5.49**. W przypadku obu testowanych opatrunków HO\_1 oraz HO\_2 zaobserwowano niewielkie zahamowanie migracji komórek fibroblastów 46BR.1N i fibroblastów pierwotnych. Najwyższe zahamowanie migracji zaobserwowano w stosunku do komórek HaCaT, gdzie 100% - owe ekstrakty znad obu rodzajów opatrunków (HO\_1 i HO\_2) wykazywały kolejno ok. 40% i 30% zahamowania migracji w stosunku do kontroli (K). W przypadku badań na kmórkach tłuszczowych (ASCs) zaobserwowano znaczny efekt pro – migracyjny (ok. 25% zwiększenie migracji w stosunku do kontroli (K) w przypadku obu badanych opatrunków).









Przeprowadzone badania cytotoksyczności, proliferacji i migracji na wybranych komórkach skórnych potwierdzają ogólne bezpieczeństwo stosowania badanych opatrunków.

# 6. Podsumowanie wyników badań

W przedstawianej pracy doktorskiej podjęto się zaprojektowania i wytworzenia dwóch typów hybrydowych warstw absorpcyjnych (typu A oraz typu B) opatrunku o strukturze "warstwy w warstwie". Różniły się one od siebie technologią otrzymywania i wykorzystywanymi materiałami. Warstwa absorpcyjna typu A wytworzona została metodą impregnacji porowatych warstw typu A wykonanych przy użyciu metody SC/PL przy pomocy hydrożelu typu A. Z kolei warstwę absorpcyjna typu B wykonano poprzez zanurzanie porowatych matryc typu B drukowanych przy pomocy technologii FDM (zastosowanej po raz pierwszy w sposobie otrzymywnia warstw absorpcyjnych opatrunku) w hydrożelu typu B. W obu przydkach otrzymano warstwy absorpcyjne o strukturze "warstwy w warstwie". Warstwa absorpcyjna o najbardziej korzystnych właściwościach pod kątem wielkości porów, wytrzymałości mechanicznej, aktywności mikrobiologicznej, a także uwalniania substancji aktywnej została następnie wytypowana do wytworzenia prototypowego opatrunku złożonego z warstwy zewnętrznej, absorpcyjnej i adhezyjnej.

W przypadku matryc porowatych typu A (CPMs) wykonanych metodą SC/PL (z PUR/PLA lub PUR/PVA) i stanowiących element składowy hybrydowych warstw absorpcyjnych typu A wykazano, że rodzaj dodatku (PLA lub PVA) do PUR istotnie wpływa na porowatość otrzymanych matryc. Badane próbki PUR/PVA wykazywały porowatość na poziomie 73 – 81 %, a wartość ta wzrastała wraz ze zwiększającym się dodatkiem PVA. Warto dodać, że dla matryc zawierających PVA porowatość była wyższa o około 5% w stosunku do próbek PUR/PLA. Wyższa porowatość CPMs wytworzonych z kompozycji PUR/PVA wynikać może z procesu wytwarzania (SC/PL), w którym zachodzi wymywanie porogenu za pomocą wody, a PVA stanowi syntetyczny polimer wodno – rozpuszczalny [58], [181], [204]. W przypadku pomiaru wielkości porów rosnący dodatek PLA powodował zmniejszanie się wielkości porów,





a rosnący dodatek PVA zwiększał wielkości porów. Jednakże dla wszystkich otrzymanych matryc wielkości te były porównywalne z wielkościami porów opatrunków dostępnych komercyjnie, które wynoszą np.  $25 - 75 \,\mu\text{m}$  (średnio 69,2  $\mu\text{m}$ ) dla Mepilex ® Silver czy 130 – 250  $\mu\text{m}$  (średnio 195,0  $\mu\text{m}$ ) dla Polymem ® Silver [128]. W badaniach prowadzonych przez Lee [128] wielkość porów i porowatośc miały wpływ na właściwości sorpcyjne i retencję wody, jednakże nie wpływały na działanie antybakteryjne wobec szczepów bakteryjnych *P. aeruginosa* oraz *S. aureus*. Badania degradacji ujawniły, że zarówno w przypadku degradacji w medium zasadowym (5M NaOH), kwaśnym (2M HCl) jak i neutralnym (0,01 M PBS o pH = 7,4), próbki otrzymane z kompozycji PUR/PVA degradowały średnio szybciej od tych które zawierały w swojej budowie PUR/PLA. Prawdopodobną przyczyną tej obserwacji jest zdolność PVA do rozpuszczania w wodzie.

Przeprowadzone badania FTIR, którym poddano próbki hydrożeli typu A (również wchodzące w skład hybrydowej warstwy absorpcyjnej typu A) potwierdziły powstawanie wiązań kowalencyjnych między łańcuchami PVA a anionami boraksu (obecność pików przy ok.1290 i 1130 cm<sup>-1</sup> charakterystycznych dla drgań rozciągających grup B-O-C) [208]. Przy pomocy FTIR w badanych hydrożelach zmodyfikowanych cyprofloksacyna zaobserwowano również pasma w zakresie 1674-1627 cm<sup>-1</sup> od drgań zginających  $\delta$ (N-H) pochodzących od chinolin, co może potwierdzać obecność Cipro w CLHs. Ponadto, obecność Cipro w hydrożelach potwierdzono także przy pomocy badań SEM z EDX, gdzie próbka H6 (hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.)) nieco wyższą zawartość atomową fluoru  $(1,33 \pm 0,05\%)$ w porównaniu do pozostałych badanych próbek. Dla hydrożeli H4 (hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 2:1 (wag./wag.)) i H5 (hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 1:1 (wag./wag.)) zawartość atomowa fluoru wynosiła kolejno  $0,44 \pm 0,03\%$  i  $0,58 \pm 0,03\%$ . Można więc wnioskować, że próbka H6 zawierała największą ilość cyprofloksacyny, co jest zgodne z metodą ich wytwarzania.





W przypadku badań HPLC zaobserwowano, że wszystkie wykonane hybrydowe warstwy absorpcyjne typu A są zdolne do uwalniaia cyprofloksacyny. Dla warstw absorpcyjnych bazyjących na matrycy porowatej wykonanej z kompozycji PUR/30PVA (F-HAL4, F-HAL5, F-HAL6) o wyższej porowatości i wielkości porów stężenia eluowanej substancji aktywnej były o ok. 9% i 3% wyższe (kolejno po 5 i 15 min badania) niż dla warstw otrzymanych z matrycy porowatej PUR/30PLA (F-HAL1, F-HAL2, F-HAL3). Pozwala to stwierdzić, że na etapie łączenia warstwy porowatej A z hydrożelem A matryce o wyższej porowatości i wielkości porów były w stanie pochłonąć więcej hydrożelu zawierającego cyprofloksacynę. Wyższe porowatości i wielkości porów powodowały także bardziej gwałtowne uwalnianie substancji aktywnej. W procesie uwalniania Cipro równie istotną rolę odegrał rodzaj hydrożelu. Zgodnie z założeniem, warstwy absorpcyjne zawierające hydrożel o wyższej zawartości cyprofloksacyny uwolniły jej większą ilość, zarówno po 5 jak i 15 min badania.

Przeprowadzone badania fizykochemiczne, analiza morfologiczna, badania uwalniania leków, krótkookresowe badania degradacji oraz weryfikacja działania biologicznego doprowadziły do wniosku, że tylko jeden z testowanych systemów mógłby znaleźc potencjalne zastosowanie jako warstwa absorpcyjna typu A. Był to system F-HAL6 oparty na warstwie porowatej typu A otrzymanej z kompozycji PUR/30PVA i hydrożelu H6 wykonanego z roztworu wodnego zawierającego 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% AA i zmieszane z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.). System ten wykazywał największa degradację (do 53% utraty masy w 2M HCl, 72% w 5M NaOH po 14 dniach i do 25% utraty masy w 0,01M PBS po 56 dniach) oraz największe uwalnianie Cipro w badaniu in - vitro (do 4 mg Cipro na 1 g opatrunku po 15 minutach). Wykorzystanie tego typu warstwy absorpcyjnej w wielowarstwowym opatrunku mogłoby zapewnić łatwe do wykonania i niedrogie rozwiązanie w leczeniu ran przewlekłych o wysokim potencjale zakażenia, stad ich działanie antybakteryjne jest bardzo pożądane. Należałoby jednak poprawić parametry uwalniania substancji aktywnej, ponieważ w przypadku wytypowanego systemu F-HAL6 (warstwa absorpcyjna wykonana z matrycy PUR/30PVA pokrytej hydrożelem H6) niemalże całkowite uwolnienie





cyprofloksacyny nastąpiło po 15 min uwalniania, przez co nie można zakwalifikowac go do systemów przedłużonego uwalniania leków.

W zakresie badań nad matrycami porowatymi typu B w pierwszym etapie wykonano metodą wtrysku kompozycje TPU/PLA o rosnącej zawartości PLA od 2,5 do 12,5% wag., co byo niezbędne, aby ocenić parametry wytrzymałościowe przed wykonaniem prototypowych filamentów o odpowiednim składzie. Przeprowadzone badania wytrzymałościowe wykazały, że najkorzystniejsze wyniki w próbach rozciągania wykazywały kompozycje zawierające 7,5% wag. i więcej PLA. W przypadku badań twardości metodą Shore'a D zaobserwowano, że twardość badanych próbek wzrastała proporcjonalnie do zawartości PLA w składzie. Badania FTIR prototypowch filamentów wykonanych z kompozycji TPU/PLA pozwoliły na stwierdzenia zjawiska separacji mikrofazowej w filamentach zawierających 7,5% wag. i więcej PLA, o czym świadczyło poszerzenie podstawy piku vC=O od grup estrowych dobrze wymieszanych TPU i PLA przy 1730 cm<sup>-1</sup>, zlokalizowane przy ok. 1770 – 1750 cm<sup>-1</sup>. Zdolnośc blendów do separacji mikrofazowej potwierdzono również w doniesieniach literaturowych [211], [212], a ponadto potwierdzono, że struktura mikrofazowa w postaci równomiernie rozproszonych sferycznych domen jednego polimeru w drugim może wpływać na podwyższenie właściwości mechanicznych blend [213].

Badania degradacji krótkoterminowej prototypowych filamentów wykazały, że w środowisku alkalicznym (5M NaOH) fimanety wykonane z PLA zdegradowały w całości, a rosnący dodatek PLA w kompozycjach TPU/PLA powodował proporcjonalny wzrost ich stopnia zdegradowania. Analiza widm FTIR potwierdziła mechanizm degradacji w środowisku alkalicznym zachądzący głównie przez grupy estrowe pochodzące od użytego poli(estro uretanu) i PLA podlegające w warunkach alkalicznych zjawisku "backbittingu", polegającego na wewnątrzcząsteczkowej kondensacji katalizowanej grupą hydroksylową pomiędzy terminalną grupą karboksylową PLA a poprzedzająca ją grupą estrową, w wyniku której następuje wydzielanie się laktydu (dimeru kwasu mlekowego) [216], [217]. Analiza degradacji w środowisku kwaśnym (2M HCl) również ujawniła stopniowy wzrost stopnia





degradacji wraz z rosnącą ilością PLA w kompozycjach TPU/PLA. Jednakże w tym przypadku degradacja zachodziła wolniej niż w środowisku alkalicznym. Analiza FTIR ujawniła mechanizm degradacji zachodzący zarówno poprzez rozpad grup estrowych jak i uretanowych. Badanie degradacji w 0,01M CoCl<sub>2</sub> w 20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> imitującym warunki in vivo a także analiza widma FTIR potwierdziły stabilność wszystkich badanych próbek w tym medium, co pozwala przewidywać, że byłyby one stabilne w warunkach zastosowania na rany. Również badanie kalcyfikacji w roztworze Golomba - Wagnera potwierdziło stabilność filamentów w badanym medium (pomijalnie małe zmiany masy – poniżej 0,1% wag.). Ponadto zauważono, że do zawartości 7,5% wag. PLA w kompozycjach włącznie nie wytrącaja się aglomeraty Przeprowadzone testy wydruku otrzymanych filamentów prowadzone soli. w temperaturze głowicy 220 °C ujawniły, że filamenty o zawartości PLA 10% i 12,5% wag. zatykaja dyszę drukarki, co może być spowodowane ich niska homogenicznością. Nartomiast wszystkie kompozycje zawierające do 7,5% wag. PLA pozwoliły na otrzymanie filamentów o właściwościach umożliwiających wydruk trójwymiarowy w technologii FDM. Na podstawie analizy możliwości wydruku oraz badań wytrzymałościowych i degradacyjnych zarówno do wydruku matryc porowatych B jak i dalszej modyfikacji siarczanem (VI) amikacyny za pomocą ko – ekstruzji i namaczania wybrano filament COMP-7,5PLA (wykonany z mieszaniny TPU z dodatkiem 7,5% wag. PLA). Przy pomocy badań HPLC ustalono, że filament COMP-7,5PLA zmodyfikowany siarczanem (VI) amikacyny przy pomocy metody ko ekstruzji nie uwalniał zawartej amikacyny. Z kolei filament zmodyfikowany siarczanem (VI) amikacyny poprzez zanurzanie w roztworze leku uwalniał całość substancji farmaceutycznej po 2 min badania. Podobnie jak w przypadku matryc porowatych typu A modyfikowanych chlorowodorkiem cyprofloksacyny, tak i tutaj nie można mówić o przedłużonym uwalnianiu, gdyż takie rozwiąznaie nie pozwala na kontrolę kinetyki uwalniania. Z tego powodu zdecydowano się na zastosowanie drukowanej w technologii FDM warstwy porowatej jako szkieletu wzmacniającego warstwy absorpcyjnej typu B, a substancję antybakteryjną (siarczan amikacyny) umieścić





w hydrożelu B, co w założeniu ma pozwolić na kontrolę kinetyki uwalniania leku w zależności od składu hydrożelu.

Badania wielkości porów matryc porowatych B o wypełnieniu heksagonalnym, liniowym i trójkatnym wydrukowanych z filamentu COMP-7,5PLA potwierdziły zgodność otrzymanych wielkości porów z zakładanymi projektami. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że w porównaniu z metodą SC/PL druk trójwymiarowy umozliwia znacznie większą kontrolę nad uzyskiwanymi wielkościami porów matryc porowatych. Zarówno ze względu na rozmiary porów, jak i najkorzystniejsze właściwości mechaniczne w próbach rozciągania, do wytworzenia porowatej matrycy B hybrydowego opatrunku wybrano matrycę o wypełnieniu liniowym (porowatość 30%) wykonaną z filamentu COMP-7,5PLA.

Wszystkie otrzymane hydrożele typu B wykazywały pęcznienie równowagowe wyższe od 400%, co umożliwia ich potencjalne zastosowania opatrunkowe [229]. Ponadto stwierdzono, że hydrożele zmodyfikowane siarczanem (VI) amikacyny AG/0.8PVA/0.8BOR/AM i AG/0.8PVP/0.8BOR/AM wykazywały odpowiednią zawartość wody i właściwości chłonne do potencjalnego zastosowania w roli opatrunku na rany charakteryzujące się dużym wysiękiem. Wykazywał one zdolności chłonne o wartości ponad 900%. W dostępnej literaturze Husain i inni [58] oraz Huang i inni [224] również stwierdzili wysokie właściwości chłonne hydrożeli bazujących na PVA oraz PVP sieciowanych tetraboranem sodu.

Ponadto w celu zbadania wpływu zawartości tetraboranu sodu i syntetycznych polimerów na proces pęcznienia wykorzystano różne modele matematyczne. Wszystkie zastosowane modele (I rzędowy, II rzędowy i Korsmeyera - Peppasa) wykazywały wysoki stopień dopasowania do danych eksperymentalnych, gdyż wartości współczynników regresji R<sup>2</sup> przekraczały 0,90. Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że najważniejszymi czynnikami wpływającymi na proces pęcznienia była zawartość tetraboranu sodu (szczególnie dla parametru pęcznienia równowagowego) oraz obecność i rodzaj polimerów syntetycznych (zarówno dla pęcznienia równowagowego, jak i stałych kinetycznych). Model Korsmeyera-Peppasa pozwolił uzyskać informacje na temat fizycznych aspektów procesu wchłaniania wody.





Dla wszystkich badanych próbek parametr n wynosił poniżej 0,5, co świadczy o tym, że transport wody odbywał się poprzez mechanizm quasi-Ficka.

Ponadto przeprowadzone badania wskazują w jaki sposób kontrolować parametry takie jak: zawartość tetraboranu sodu i obecność PVA lub PVP, aby uzyskać satysfakcjonujące właściwości chłonne, takie jak pęcznienie równowagowe i stałe kinetyczne. Zaobserwowano, że zarówno rodzaj zastosowanego polimeru syntetycznego (PVA oraz PVP) jak i ilość środka sieciujacego maja istotny wpływ na właściwości chłonne hydrożeli. Hydrożele zawierające PVA wykazywały średnio wyższe wartości pęcznienia równowagowego w porównaniu z hydrożelami zawierającymi PVP, a proces pochłaniania przez nie wody zachodził wolniej (dłuższy czas ustalenia się równowagi pomiędzy wodą a hydrożelem). Dodatkowo, w przypadku wszystkich hydrożeli zbyt wysoka zawartośc tetraboranu sodu (1,6% wag.) powodowała obniżenie właściwości sorpcyjnych. Badanie FTIR wytworzonych hydrożeli typu B pozwoliło wykazało zarówno sieciowanie fizyczne (wiązania wodorowe) jak i kowalencyjne pomiędzy łańcuchami polimerowymi a boraksem. Warto również wspomnieć, że dla hydrożelu zawierającego PVA dodatek siarczanu amikacyny nie był istotnym czynnikiem wpływającym na właściwości pęcznienia, w przeciwieństwie do hydrożelu zawierającego PVP, gdzie dodatek substancji czynnej widocznie obniżał wartość pęcznienia równowagowego. Badanie FTIR wytworzonych hydrożeli typu B pozwoliło stwierdzić, że występuje tu zarówno sieciowanie fizyczne (wiązania wodorowe) jak i kowalencyjne pomiędzy łańcuchami polimerowymi a boraksem.

Przeprowadzone badania antybakteryjne wykazały, że hydrożele modyfikowane siarczanem amikacyny wykazują silne działanie przeciwko szczepom bakteryjnym *S. epidermidis* i *E. coli*, które są bardzo częstą przyczyną infekcji ran. Dla porównania, hydrożele niemodyfikowane siarczanem amikacyny nie wykazują żadnej aktywności przeciwbakteryjnej wobec obu badanych szczepów bakteryjnych. Z kolei badania uwaniania siarczanu (VI) amikacyny z hydrożeli HB\_1 i HB\_2 przy pomocy HPLC pozwoliły ustalić, że maksymalne uwalnianie substancji aktywnej nastąpiło po 180 min badania i wyosiło w obu przypadkach ok. 43% zawartego w nich siarczanu (VI) amikacyny. Jednakże w przeciwieństwie do matryc porowatych A oraz filamentów





COMP-7,5PLA zmodyfikowanych amikacyną zanurzeniowo, w tym przypadku uwalnianie było kontrolowane stopniowe i skorelowane z krzywymi pęcznienia hydrożeli zawierających w swoim składzie PVA (Rys. 4.32 a i b). Można zatem wnioskować, że profil pęcznienia hydrożelu ma istotny wpływ na profil uwalniania zawartej w nim amikacyny.

Na podstawie badań właściwości chłonnych, antybakteryjnych oraz możliwości uwalniania siarczanu (VI) amikacyny, w celu wykonania dwóch prototypowych hybrydowych opatrunków wytypowano warstwę absorpcyjną B wykonaną z matrycy porowatej B drukowanej w technologii FDM o wypełnieniu liniowym zanurzoną w hydrożelu B o oznaczeniu HB 1 (opatrunek HO 1) oraz HB 2 (opatrunek HB 2). Badania cytotoksyczności przy pomocy testów LDH nie ujawniły cytotoksyczności badanych opatrunków wobec żadnych z badanych komórek (fibroblastów 46BR.1N, fibroblastów pierwotnych, keranocytów HaCaT oraz komórek macierzystych tkanki tłuszczowej). Najwyższe zahamowanie proliferacji nastąpiło w przypadku obu opatrunków w stosunku do komórek fibroblastów 46BR.1N (ok. 50%). Najwyższe zahamowanie migracji zaobserwowano dla komórek HaCaT, z kolei w stosunku do komórek macierzystych tkanki tłuszczowej ujawniono niewielki efekt pro migracyjny. Wykonane analizy cytotoksyczności, proliferacji i migracji pozwalają potwierdzić ogólne bezpieczeństwo badanych opatrunków HO 1 oraz HO 2, jednakże badania należałoby kontunuować np. z zastosowaniem zwierzęcego modelu gojenia ran. Otrzymane wytypowane opatrunki można zatem przekazać do kolejnego etapu badań, co wykracza obecnie poza zakres niniejszej pracy.

# 7. Wnioski

1) W przedstawianej pracy doktorskiej udało się zaprojektować nietypowe opatrunki kompozytowe i wykonać dwa rodzaje (Typ A i Typ B) hybrydowych warstw absorpcyjnych opatrunku.

2) Dla warstwy absorpcyjnej typu A uzuskano zadowalające wyniki pod kątem wielkości porów i porowatości, porównywalne z badanymi w literaturze opatrunkami





dostępnymi handlowo. Jednakże brak bezpośredniej kontroli nad wielkościami porów w trakcie wytwarzania metodą SC/PL porowatej warstwy typu A, a także gwałtowne uwalnianie chlorowodorku cyprofloksacyny w trakcie badań *in vitro* było czynnikami eliminującymi ten typ warstwy z dalszych badań mikrobiologicznych.

3) Sposób otrzymywania warstw absorpcyjnych B z wykorzystaniem druku w technologii FDM zapewnił kontrolę nad rozmiarem porów i właściwościami mechanicznymi. Ponadto wykorzystane do ich wytworzenia hydrożele B zapewniły działanie antybakteryjne i odpowiedni profil przedłużonego uwalnania siarczanu (VI) amikacyny.

4) Ustalono, że profil uwalniania substancji aktywnej zależał od mechanizmu sorpcji wody przez badane hydrożele. Stopniowe pochłanianie wody hydrożeli na bazie agaru i PVA sieciowanych boraksem ujawnione w testach kinetyki pęcznienia miało przełożenie na stopniowe uwalnianie siarczanu (VI) amikacyny w testach *in vitro* do środowiska wodnego.

5) Hybrydowe opatrunki (HO\_1 i HO\_2) wykonane z warstwy absorpcyjnej B, warstwy adhezyjnej z PVA oraz termoformowanej warstwy zewnętrznej okazały się potencjalnie bezpieczne do stosowania na rany, co potwierdzono testami cytotoksyczności, proliferacji i migracji komórek ludzkich (fibroblastów 46BR.1N, fibroblastów pierwotnych, keranocytów HaCaT oraz komórek macierzystych tkanki tłuszczowej).

6) Przeprowadzone badania wykazały, że zaprojektowane w pracy doktorskiej warstwy absorpcyjne B opatrunku hybrydowego typu warstwa w warstwie, mogą stanowić ciekawe i nowatorskie rozwiązanie w sposobie otrzymywania opatrunków na rany. Zalecane są dalsze badania w dziedzinie bezpieczeństwa i skuteczności antybakteryjnej na modelach zwierzęcych, co wykracza poza zakres i cel pracy.



# LITERATURA

- [1] V. S. V. Priya, H. K. Roy, and N. L. Prasanthi, "Polymers in Drug Delivery Technology, Types of Polymers and Applications Polymers in Drug Delivery Technology, Types of Polymers and Applications," no. March, 2017, doi: 10.21276/sajp.2016.5.7.7.
- [2] G. Vilar, J. Tulla-puche, and F. Albericio, "Polymers and Drug Delivery Systems," pp. 1–28, 2018.
- [3] W. B. Liechty, D. R. Kryscio, B. V Slaughter, and N. A. Peppas, "Polymers for Drug Delivery Systems," 2010, doi: 10.1146/annurev-chembioeng-073009-100847.
- [4] "Global wound care market." [Online]. Available: https://market.us/report/wound-care-market/ [24.03.2024]
- [5] R. Laurano, M. Boffito, G. Ciardelli, and V. Chiono, "Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market," *Eng. Regen.*, vol. 3, no. 2, pp. 182–200, 2022, doi: 10.1016/j.engreg.2022.04.002.
- [6] D. Queen, H. Orsted, H. Sanada, and G. Sussman, "A dressing history," vol. 1, no. 1, 2004.
- [7] A. Srivastava, T. Yadav, S. Sharma, A. Nayak, and A. Kumari, "Polymers in Drug Delivery," no. January, pp. 69–84, 2016.
- [8] H. Janik and M. Marzec, "A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 586–591, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2014.12.037.
- [9] S. Saghazadeh *et al.*, "Drug delivery systems and materials for wound healing applications ☆," vol. 127, pp. 138–166, 2018, doi: 10.1016/j.addr.2018.04.008.
- [10] A. Sood, M. S. Granick, and N. L. Tomaselli, "Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data," *Adv. Wound Care*, vol. 3, no. 8, pp. 511–529, 2014, doi: 10.1089/wound.2012.0401.
- [11] R. Esteban-Vives, M. T. Young, J. Ziembicki, A. Corcos, and J. C. Gerlach, "Effects of wound dressings on cultured primary keratinocytes," *Burns*, vol. 42,





no. 1, pp. 81–90, 2016, doi: 10.1016/j.burns.2015.06.016.

- [12] P. S. K and M. Babu, "Collagen based dressings D a review," vol. 26, pp. 54–62, 2000.
- [13] S. Ono, R. Imai, Y. Ida, D. Shibata, T. Komiya, and H. Matsumura, "ScienceDirect Increased wound pH as an indicator of local wound infection in second degree burns," *Burns*, vol. 41, no. 4, pp. 820–824, 2014, doi: 10.1016/j.burns.2014.10.023.
- [14] J. S. Boateng, K. H. Matthews, H. N. E. Stevens, and G. M. Eccleston, "Wound healing dressings and drug delivery systems: A review," *J. Pharm. Sci.*, vol. 97, no. 8, pp. 2892–2923, 2008, doi: 10.1002/jps.21210.
- [15] M. Irfan-maqsood, "Classification of Wounds: Know before Research and Clinical Practice," J. Genes Cells, vol. 4, p. 1, 2018, doi: 10.15562/gnc.61.
- [16] T. Mustoe, "Understanding chronic wounds: A unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy," *Am. J. Surg.*, vol. 187, no. 5 SUPPL. 1, pp. S65–S70, 2004, doi: 10.1016/S0002-9610(03)00306-4.
- S. Sadeghzade, R. Emadi, and S. Labbaf, "Hardystonite-diopside nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering applications," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 202, pp. 95–103, 2017, doi: 10.1016/j.matchemphys.2017.09.018.
- [18] H. Liu, C. Wang, and C. Li, "RSC Advances dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing," *RSC Adv.*, vol. 8, pp. 7533–7549, 2018, doi: 10.1039/C7RA13510F.
- [19] I. Negut, V. Grumezescu, and A. M. Grumezescu, "Treatment strategies for infected wounds," *Molecules*, vol. 23, no. 9, pp. 1–23, 2018, doi: 10.3390/molecules23092392.
- [20] "Gojenie ran." [Online]. Available: https://dermatic.pl/aestheticbusiness/2022/12/07/gojenie-ran-o-czym-musiszpamietac/ [dostęp: 05.06.2024]
- [21] H. Sorg, D. J. Tilkorn, S. Hager, J. Hauser, and U. Mirastschijski, "Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts," *European Surgical Research*, vol. 58, no. 1–2. S. Karger AG, pp. 81–94, Feb. 01, 2017. doi:



10.1159/000454919.

- [22] M. Xue and C. J. Jackson, "Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring," *Adv. Wound Care*, vol. 4, no. 3, pp. 119–136, Mar. 2015, doi: 10.1089/wound.2013.0485.
- [23] L. Rittié, "Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals," *Journal of Cell Communication and Signaling*, vol. 10, no. 2. Springer Netherlands, pp. 103–120, Jun. 01, 2016. doi: 10.1007/s12079-016-0330-1.
- [24] Brigham P.A.; McLoughlin E.;, "Burn incidence and medical care use in the United States: estimate, trends, and data sources," J. Burn Care Rehabil, vol. 17:95, 1996.
- [25] S. Guo and L. A. Dipietro, "Factors Affecting Wound Healing," no. Mc 859, pp. 219–229, 2010, doi: 10.1177/0022034509359125.
- [26] G. Tiwari *et al.*, "Drug delivery systems: An updated review," *Int. J. Pharm. Investig.*, vol. 2, no. 1, p. 2, 2012, doi: 10.4103/2230-973x.96920.
- [27] "Mepilex Ag." [Online]. Available: https://www.molnlycke.pl/produkty-irozwiazania/mepilex-ag/ [dostęp: 05.05.2024]
- [28] D. J. Leaper, G. Schultz, K. Carville, J. Fletcher, T. Swanson, and R. Drake, "Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years ?\*," 2012.
- [29] J. Z. Ryszard Maciejewski, "Inżynieria biomedyczna: techniki, technologie, badania Biblioteka Cyfrowa Politechniki Lubelskiej." Accessed: Sep. 14, 2020.
   [Online]. Available: http://bc.pollub.pl/dlibra/publication/9984/edition/9304/content?ref=desc
- [30] M. J. Karpiński R., Górniak B., "Biomedyczne zastosowania polimerów materiały opatrunkowe," in *Nowoczesne trendy w medycynie*, Lublin, 2015. Accessed: Sep. 14, 2020. [Online]. Available: www.fundacja-tygiel.pl
- [31] "OptiView Transparent Dressing With Hydrocore Technology." [Online].
   Available: https://www.medline.com/skin-health/transparent-dressing/ [dostęp: 05.06.2024]
- [32] J. Koehler, F. P. Brandl, and A. M. Goepferich, "Hydrogel wound dressings for





bioactive treatment of acute and chronic wounds," *Eur. Polym. J.*, vol. 100, pp. 1–11, 2018, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.12.046.

- [33] A. R. Unnithan *et al.*, "Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl," *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 4, pp. 1786–1793, 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.071.
- [34] H. Vermeulen, D. T. Ubbink, A. Goossens, R. De Vos, and D. A. Legemate, "Systematic review of dressings and topical agents for surgical wounds healing by secondary intention," pp. 665–672, 2005, doi: 10.1002/bjs.5055.
- [35] M. Miraftab and G. Collyer, "A critical review of modern and emerging absorbent dressings used to treat exuding wounds," pp. 1–12, 2012, doi: 10.1111/j.1742-481X.2011.00923.x.
- [36] S. Chattopadhyay and R. T. Raines, "Review collagen-based biomaterials for wound healing," *Biopolymers*, vol. 101, no. 8, pp. 821–833, 2014, doi: 10.1002/bip.22486.
- [37] C. Yao, C. Lee, C. Huang, and K. Chen, "Novel bilayer wound dressing based on electrospun gelatin/keratin nanofibrous mats for skin wound repair," *Mater. Sci. Eng. C*, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.05.076.
- [38] E. I. Alarcon and A. B. Baker, "Biomaterials and Nanotherapeutics for enhancing Skin wound Healing," vol. 4, no. October, pp. 1–20, 2016, doi: 10.3389/fbioe.2016.00082.
- [39] F. S. Pott, M. J. Meier, J. G. D. Stocco, K. Crozeta, and J. D. Ribas, "The effectiveness of hydrocolloid dressings versus other dressings in the healing of pressure ulcers in adults and older adults: A systematic review and metaanalysis.," *Rev. Lat. Am. Enfermagem*, vol. 22, no. 3, pp. 511–520, 2014, doi: 10.1590/0104-1169.3480.2445.
- [40] K. Bialik-wąs and K. Pielichowski, "Polimerowe opatrunki hydrożelowe dla zastosowań biomedycznych," *Czas. Tech. Chem.*, vol. 108, no. 20, pp. 39–52, 2011.
- [41] S. Dhivya, V. V. Padma, and E. Santhini, "Wound dressings A review,"





*Biomed.*, vol. 5, no. 4, pp. 24–28, 2015, doi: 10.7603/s40681-015-0022-9.

- [42] P. Zahedi, I. Rezaeian, S. O. Ranaei-Siadat, S. H. Jafari, and P. Supaphol, "A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages," *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 21, no. 2. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 77–95, Feb. 01, 2010. doi: 10.1002/pat.1625.
- [43] C. Flores *et al.*, "Preparation and characterization of novel chitosan and βcyclodextrin polymer sponges for wound dressing applications," *Carbohydr. Polym.*, vol. 173, pp. 535–546, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.06.026.
- [44] P. Zahedi, I. Rezaeian, S. O. Ranaei-Siadat, S. H. Jafari, and P. Supaphol, "A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages," *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 21, no. 2. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 77–95, Feb. 2010. doi: 10.1002/pat.1625.
- [45] M. J. Hoekstra, M. H. Hermans, C. D. Richters, and R. P. Dutrieux, "A histological comparison of acute inflammatory responses with a hydrofibre or tulle gauze dressing.," *J. Wound Care*, vol. 11, no. 3, pp. 113–117, 2002, doi: 10.12968/jowc.2002.11.3.26384.
- [46] S. Dhivya, V. V. Padma, and E. Santhini, "Wound dressings A review," *BioMedicine (Netherlands)*, vol. 5, no. 4. China Medical University, pp. 24–28, Dec. 01, 2015. doi: 10.7603/s40681-015-0022-9.
- [47] I. R. Sweeney, M. Miraftab, and G. Collyer, "A critical review of modern and emerging absorbent dressings used to treat exuding wounds," *Int. Wound J.*, vol. 9, no. 6, pp. 601–612, 2012, doi: 10.1111/j.1742-481X.2011.00923.x.
- [48] S. Anbazhagan and K. P. Thangavelu, "Application of tetracycline hydrochloride loaded-fungal chitosan and Aloe vera extract based composite sponges for wound dressing," J. Adv. Res., vol. 14, pp. 63–71, 2018, doi: 10.1016/j.jare.2018.05.005.
- [49] P. Trucillo and E. Di Maio, "Classification and production of polymeric foams among the systems for wound treatment," *Polymers (Basel).*, vol. 13, no. 10, 2021, doi: 10.3390/polym13101608.
- [50] A. Sathiyaseelan, A. Shajahan, P. T. Kalaichelvan, and V. Kaviyarasan, "Fungal chitosan based nanocomposites sponges—An alternative medicine for wound





dressing," Int. J. Biol. Macromol., vol. 104, pp. 1905–1915, 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.188.

- [51] H. Ogawa, A. Ito, K. Taki, and M. Ohshima, "A new technique for foaming submicron size poly(methyl methacrylate) particles," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 106, no. 4, pp. 2825–2830, Nov. 2007, doi: 10.1002/APP.26944.
- [52] K. Cholewa-kowalska, "W Inżynierii Tkankow Ej Selected Methods of Preparation of," vol. 20, no. 4, pp. 193–203.
- [53] Z. Ma, C. Gao, Y. Gong, and J. Shen, "Paraffin Spheres as Porogen to Fabricate Poly(L-Lactic Acid) Scaffolds with Improved Cytocompatibility for Cartilage Tissue Engineering," *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 67, no. 1, pp. 610–617, Oct. 2003, doi: 10.1002/JBM.B.10049.
- [54] W. Zhou *et al.*, "Polymer lithium-garnet interphase for an all-solid-state rechargeable battery," *Nano Energy*, vol. 53, pp. 926–931, Nov. 2018, doi: 10.1016/J.NANOEN.2018.09.004.
- [55] D. C. Roy *et al.*, " Ciprofloxacin-Loaded Keratin Hydrogels Prevent Pseudomonas aeruginosa Infection and Support Healing in a Porcine Full-Thickness Excisional Wound," *Adv. Wound Care*, vol. 4, no. 8, pp. 457–468, 2015, doi: 10.1089/wound.2014.0576.
- [56] D. Mukherjee *et al.*, "Development and characterization of chitosan-based hydrogels as wound dressing materials," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 46, no. June, pp. 498–510, 2018, doi: 10.1016/j.jddst.2018.06.008.
- [57] J. Kim, J. Lee, H. Jung, J. Cho, J. Heo, and Y. Chang, "Preparation and Properties of Collagen / Modified Hyaluronic Acid Hydrogel for Biomedical Application," pp. 3852–3856, 2007, doi: 10.1166/jnn.2007.047.
- [58] M. S. B. Husain, A. Gupta, B. Y. Alashwal, and S. Sharma, "Synthesis of PVA/PVP based hydrogel for biomedical applications: a review," *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.*, vol. 40, no. 20, pp. 2388–2393, 2018, doi: 10.1080/15567036.2018.1495786.
- [59] N. Roy and N. Saha, "PVP-based hydrogels: Synthesis, properties and applications," no. September 2012, 2018.





- [60] E. Biazar, Z. Roveimiab, G. Shahhosseini, M. Khataminezhad, M. Zafari, and A. Majdi, "Biocompatibility Evaluation of a New Hydrogel Dressing Based on Polyvinylpyrrolidone / Polyethylene Glycol," vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/343989.
- [61] S. L. Chen, R. H. Fu, S. F. Liao, S. P. Liu, S. Z. Lin, and Y. C. Wang, "A PEG-Based Hydrogel for Effective Wound Care Management," *Cell Transplant.*, vol. 27, no. 2, pp. 275–284, 2018, doi: 10.1177/0963689717749032.
- [62] G. M. Halpenny, Æ. R. C. Steinhardt, K. A. Okialda, and Æ. P. K. Mascharak, "Characterization of pHEMA-based hydrogels that exhibit light-induced bactericidal effect via release of NO," pp. 2353–2360, 2009, doi: 10.1007/s10856-009-3795-0.
- [63] L. J. Borda, F. E. Macquhae, and R. S. Kirsner, "Wound Dressings: A Comprehensive Review," *Curr. Dermatol. Rep.*, 2016, doi: 10.1007/s13671-016-0162-5.
- [64] Q. Jiang, W. zhou, J. Wang, R. Tang, D. Zhang, and X. Wang, "Hypromellose succinate-crosslinked chitosan hydrogel films for potential wound dressing," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 91, pp. 85–91, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.05.077.
- [65] G.-G. A. Wrzecionek M., Szymaniak M, "Materiały hydrożelowe i ich zastosowanie w medycynie," in Wybrane rozwiązania technologiczne w medycynie, TYGIEL, 2018. [Online]. Available: https://www.jstage.jst.go.jp/article/proce1989/47/0/47\_0\_1166/\_article/-char/ja/
- [66] X. Bi and A. Liang, "In Situ-Forming Cross-linking Hydrogel Systems: Chemistry and Biomedical Applications," in *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*, InTech, 2016. doi: 10.5772/63954.
- [67] L. T., "Hydrogel Dressings".
- [68] G. D. Winter, "Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig," *Nature*, vol. 193, no. 4812, pp. 293–294, 1962, doi: 10.1038/193293a0.
- [69] J. Su, J. Li, J. Liang, K. Zhang, and J. Li, "Hydrogel preparation methods and





biomaterials for wound dressing," *Life*, vol. 11, no. 10, pp. 1–22, 2021, doi: 10.3390/life11101016.

- [70] J. Wang *et al.*, "Antibacterial Zwitterionic Polyelectrolyte Hydrogel Adhesives with Adhesion Strength Mediated by Electrostatic Mismatch," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 12, no. 41, pp. 46816–46826, Oct. 2020, doi: 10.1021/ACSAMI.0C14959.
- [71] X. Li *et al.*, "Multiple Hydrogen Bonds–Reinforced Hydrogels with High Strength, Shape Memory, and Adsorption Anti-Inflammatory Molecules," *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 41, no. 14, Jul. 2020, doi: 10.1002/MARC.202000202.
- [72] C. H. Lu, C. H. Yu, and Y. C. Yeh, "Engineering nanocomposite hydrogels using dynamic bonds," *Acta Biomater.*, vol. 130, pp. 66–79, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2021.05.055.
- [73] S. Kang *et al.*, "Novel thermal radical initiators based on a triazene moiety for radical polymerization," *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 68, pp. 1–5, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.JIEC.2018.08.008.
- [74] Y. Zhong, P. Li, J. Hao, and X. Wang, "Bioinspired Self-Healing of Kinetically Inert Hydrogels Mediated by Chemical Nutrient Supply," ACS Appl. Mater. Interfaces, vol. 12, no. 5, pp. 6471–6478, Feb. 2020, doi: 10.1021/ACSAMI.9B20445/SUPPL\_FILE/AM9B20445\_SI\_003.AVI.
- [75] O. F. Manufacturing, "Patent US4871490A," no. 19, pp. 3–4, 1989.
- [76] "Patent US4871490A." [Online]. Available: https://patents.google.com/patent/US4871490A/en [dostęp: 06.06.2024]
- [77] R. N. Oliveira *et al.*, "Mechanical properties and in vitro characterization of polyvinyl alcoholnano- silver hydrogel wound dressings," *Interface Focus*, vol. 4, no. 1, 2014, doi: 10.1098/rsfs.2013.0049.
- [78] S. E. L. Bulman, P. Goswami, G. Tronci, S. J. Russell, and C. Carr, "Investigation into the potential use of Poly (vinyl alcohol)/ Methylglyoxal fibres as antibacterial wound dressing components".
- [79] C. Cencetti et al., "Preparation and characterization of antimicrobial wound



dressings based on silver, gellan, PVA and borax," *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 3, pp. 1362–1370, 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.005.

- [80] J. G. Lyons, L. M. Geever, M. J. D. Nugent, J. E. Kennedy, and C. L. Higginbotham, "Development and characterisation of an agar-polyvinyl alcohol blend hydrogel," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 2, no. 5, pp. 485–493, 2009, doi: 10.1016/j.jmbbm.2008.12.003.
- [81] H. Liu *et al.*, "A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing," *RSC Advances*, vol. 8, no. 14. Royal Society of Chemistry, pp. 7533–7549, Feb. 14, 2018. doi: 10.1039/c7ra13510f.
- [82] K. S. Anseth, C. N. Bowman, and L. Brannon-peppas, "Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination (:) T ." + T (%) L," vol. 17, no. 17, pp. 1647–1657, 1996.
- [83] A. S. Hoffman, "Hydrogels for biomedical applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. SUPPL., pp. 18–23, 2012, doi: 10.1016/j.addr.2012.09.010.
- [84] M. Bustamante-Torres, D. Romero-Fierro, B. Arcentales-Vera, K. Palomino, H. Magaña, and E. Bucio, "Hydrogels Classification According to the Physical or Chemical Interactions and as Stimuli-Sensitive Materials," *Gels*, vol. 7, no. 4, Dec. 2021, doi: 10.3390/GELS7040182.
- [85] S. Kamboj, K. Saroha, M. Goel, and C. Madhu, "Sustained release drug delivery system: An overview," *Pharma Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 169–186, 2012.
- [86] P. A. Bustamante, M. C. Anessi, N. C. Santoro, N. Ciavaro, and C. Horak, "Analysis of the swelling kinetic in hydrogels gelled by radiation and by thermal cycling," pp. 1–15, 2021.
- [87] A. Vashist, A. Vashist, Y. K. Gupta, and S. Ahmad, "Recent advances in hydrogel based drug delivery systems for the human body," pp. 147–166, 2014, doi: 10.1039/c3tb21016b.
- [88] E. Manaila *et al.*, "Hydrogels Synthesized by Electron Beam Irradiation for Heavy Metal Adsorption," no. May, 2017, doi: 10.3390/ma10050540.
- [89] P. Ilgin, H. Ozay, and O. Ozay, "A new dual stimuli responsive hydrogel:





Modeling approaches for the prediction of drug loading and release pro fi le," *Eur. Polym. J.*, vol. 113, no. February, pp. 244–253, 2019, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.02.003.

- [90] S. U. Ions, "Swelling Characterization and Adsorptive Features of Acrylamide / Itaconic Acid Swelling Characterization and Adsorptive Features of Acrylamide / Itaconic Acid Hydrogels and Semi-IPNs for Uranyl Ions," no. November, 2012, doi: 10.1080/03602559.2012.716132.
- [91] A. Ahmed, G. Getti, and J. Boateng, "Ciprofloxacin-loaded calcium alginate wafers prepared by freeze-drying technique for potential healing of chronic diabetic foot ulcers," *Drug Deliv. Transl. Res.*, vol. 8, no. 6, pp. 1751–1768, 2018, doi: 10.1007/s13346-017-0445-9.
- [92] A. S. Kipcak, O. Ismail, I. Doymaz, and S. Piskin, "Modeling and Investigation of the Swelling Kinetics of Acrylamide-Sodium Acrylate Hydrogel," vol. 2014, 2014.
- [93] S. M. H. Bukhari, S. Khan, M. Rehanullah, and N. M. Ranjha, "Synthesis and Characterization of Chemically Cross-Linked Acrylic Acid/Gelatin Hydrogels: Effect of pH and Composition on Swelling and Drug Release," *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/187961.
- [94] J. Holländer *et al.*, "Three-Dimensional Printed PCL-Based Implantable Prototypes of Medical Devices for Controlled Drug Delivery," *J. Pharm. Sci.*, vol. 105, no. 9, pp. 2665–2676, 2016, doi: 10.1016/j.xphs.2015.12.012.
- [95] D. J. Sarkar, A. Singh, S. R. Gaur, and A. V. Shenoy, "Viscoelastic properties of borax loaded CMC-g-cl-poly(AAm) hydrogel composites and their boron nutrient release behavior," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 133, no. 38, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1002/app.43969.
- [96] M. Saidi, A. Dabbaghi, and S. Rahmani, "Swelling and drug delivery kinetics of click - synthesized hydrogels based on various combinations of PEG and star shaped PCL : influence of network parameters on swelling and release behavior," *Polym. Bull.*, vol. 77, no. 8, pp. 3989–4010, 2020, doi: 10.1007/s00289-019-02948-z.




- [97] T. K. Giri, K. Kumar, A. Alexander, H. Badwaik, and D. K. Tripathi, "A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique," *Bull. Fac. PHARMACY, CAIRO Univ.*, no. December, 2012, doi: 10.1016/j.bfopcu.2012.07.002.
- [98] M. P. Paarakh, P. A. N. I. Jose, C. M. Setty, and G. V Peter, "RELEASE KINETICS – CONCEPTS AND APPLICATIONS," pp. 12–20, 2018.
- [99] M. S. Granick, A. Sood, and N. L. Tomaselli, "Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data," vol. 3, no. 8, pp. 511–529, 2014, doi: 10.1089/wound.2012.0401.
- [100] M. H. Ortiz, Rachel T.; Moffat, Lauren T; Robson, Martin C; Jordan, "In Vivo and In Vitro Evaluation of the Properties of Drawtex LevaFiber Wound Dressing in an Infected Burn Wound Model | Request PDF," Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice 20(2):3-5. Accessed: Jun. 06, 2024. [Online]. Available:

https://www.researchgate.net/publication/291148655\_In\_Vivo\_and\_In\_Vitro\_Ev aluation\_of\_the\_Properties\_of\_Drawtex\_LevaFiber\_Wound\_Dressing\_in\_an\_Inf ected\_Burn\_Wound\_Model

- [101] A. Sharma, S.M.; Dua, A.; Malik, "Sharma, S. M., Amita Dua and Amita Malik.'THIRD GENERATION MATERIALS FOR WOUND DRESSINGS.' (2014).".
- [102] P. Application, "Patent US 20210252182 A1," 2021.
- [103] I. Latańska, B. Kolesińska, Z. Draczyński, and W. Sujka, "The use of chitin and chitosan in manufacturing dressing materials," *Prog. Chem. Appl. Chitin its Deriv.*, vol. 25, pp. 16–36, 2020, doi: 10.15259/PCACD.25.002.
- [104] J. B. Shah, "The history of wound care," J. Am. Col. Certif. Wound Spec., vol. 3, no. 3, pp. 65–66, 2011, doi: 10.1016/j.jcws.2012.04.002.
- [105] D. Queen, H. Orsted, H. Sanada, and G. Sussman, "A dressing history," *Int. Wound J.*, vol. 1, no. 1, pp. 59–77, 2004, doi: 10.1111/j.1742-4801.2004.0009.x.
- [106] "Zelaffin." [Online]. Available: https://www.amazon.pl/parafinowa-tiulowaopatrunkowa-impregnowana-parafiną/dp/B0B432HDD4 [24.03.2024]
- [107] "Exufiber", [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/exufiber.html





[29.02.2024.]

[108] "Vlivasorb."[Online].Available:https://www.vitalitymedical.com/catalogsearch/result/?q=vliwasorbsuperabsorbent wound dressing [29.02.2024.]super

- [109] "3M Medipore + Pad." [Online]. Available: https://www.3mpolska.pl/3M/pl\_PL/p/d/v000084732/ [29.02.2024.]
- [110] A. Forenza, "United States Patent: 3871965 United States Patent: 3871965," Yeast, vol. 2, no. 12, pp. 4–6, 2010.
- [111] "Mackesson Superabsorber Polymer Dressing." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/superabsorber-super-absorbent-polymerdressing-6-x-9-inch-sterile.html [29.02.2024.]
- [112] "Hydrofera Blue Ready Border Dressing." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/hydrofera-blue-ready-border-dressing.html [29.02.2024.]
- [113] "Mepilex Self Adherent Foam Dressing." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/mepilex-self-adherent-foam-dressing.html [29.02.2024.]
- [114] "ConvaMax Superabsorber." [Online]. Available: https://www.convatec.com/plpl/produkty/leczenie-ran-i-ochrona-skory/rodzaj-rany/leczenie-ran-zespol-stopycukrzycowej/842b77c4-16f3-4f04-bbe4-64440cfa7351/ [29.02.2024.]
- [115] "HydraLock SA Superabsorbent Dressing." [Online]. Available: https://dermarite.com/wp-content/uploads/2015/05/HydraLock\_SA-Sell-Sheet.pdf [29.02.2024.]
- [116] "Mepilex Border Sacrum." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/mepilex-border-sacrum-295400-6-x-6-inch-bymolnlycke.html [29.02.2024]
- [117] S. Tohoda, F. Application, and P. Data, "(12) United States Design Patent do Patent No.: US D748,276 S," no. 12, pp. 0–4, 2012.
- [118] "Mepilex Border Sacrum Dressing." [Online]. Available: https://www.molnlycke.pl/produkty-i-rozwiazania/mepilex-border-sacrum/



[19.03.2024]

- [119] "Moderex Hydro Cool Hydrogel Dressing." [Online]. Available: https://zelador.com/products/moderex-hydro-cool-hydrogel-dressing-sheet [19.03.2024]
- [120] "Moderex Hydro Hydrogel Cool Dressing Sheet." [Online]. Available: https://www.amazon.sa/-/en/Hydrocool-Hydrogel-Dressings-Secondary-Rehydrating/dp/B08VD8SDY9 [19.03.2024]
- [121] "Moderex Lite Foam Dressing." [Online]. Available: https://zelador.com/products/moderex-lite-foamdressing?pr\_prod\_strat=e5\_desc&pr\_rec\_id=b1ce059e4&pr\_rec\_pid=488039877 8477&pr\_ref\_pid=6653866442861&pr\_seq=uniform [16.03.2024]
- [122] "Alldress Absorbent Film Dressing." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/alldress-absorbent-film-dressing.html [29.02.2024.]
- [123] "Mepilex Border Flex." [Online]. Available: https://www.vitalitymedical.com/mepilex-border-flex.html [2024-03-19]
- [124] S. Tohoda, F. Application, and P. Data, "(12) United States Design Patent do Patent No.: US D790,071 S," no. 12, pp. 0–4, 2012.
- [125] P. Rodzewicz and G. Se, "Us \$ 8 10, 2018," vol. 124, pp. 4–6, 2019.
- [126] T. E. Serena *et al.*, "Multifunctional and patient-focused Mepilex Border Flex: an exploration of its holistic clinical benefits," *J. Wound Care*, vol. 28, no. Sup6b, pp. S1–S31, 2019, doi: 10.12968/jowc.2019.28.Sup6b.S1.
- [127] I. D. J. Shaw et al., "Non-Adherent wound dressing," vol. 2, no. 12, 2006.
- [128] S. M. Lee *et al.*, "Superior absorption and retention properties of foam-film silver dressing versus other commercially available silver dressing," *Biomater. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–7, 2016, doi: 10.1186/s40824-016-0069-z.
- [129] H. U. Zaman, J. M. M. Islam, M. A. Khan, and R. A. Khan, "Physico-mechanical properties of wound dressing material and its biomedical application," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 4, no. 7, pp. 1369–1375, 2011, doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.05.007.





- [130] S. Kaya and S. Derman, "Properties of Ideal Wound Dressing," Ankara Univ. Eczac. Fak. Derg., vol. 47, no. 3, pp. 1119–1131, 2023, doi: 10.33483/jfpau.1253376.
- [131] A. Gefen *et al.*, "Mechanical and contact characteristics of foam materials within wound dressings: Theoretical and practical considerations in treatment," *Int. Wound J.*, vol. 20, no. 6, pp. 1960–1978, 2023, doi: 10.1111/iwj.14056.
- [132] K. Wang, S. Wang, F. Wu, Y. Pang, W. Zhai, and W. Zheng, "Supercritical CO2 in controlling phase morphology of polypropylene/polystyrene blends and the corresponding mechanical properties and foamability," *Polym. Bull.*, vol. 73, no. 4, pp. 941–957, 2016, doi: 10.1007/s00289-015-1528-8.
- [133] S. M. Lee *et al.*, "Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing," *Biomater. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1186/s40824-016-0063-5.
- [134] Y. Kong *et al.*, "Degradable tough chitosan dressing for skin wound recovery," *Nanotechnol. Rev.*, vol. 9, no. 1, pp. 1576–1585, 2020, doi: 10.1515/ntrev-2020-0105.
- [135] G. J. Vazquez-Zapien *et al.*, "Skin wound healing improvement in diabetic mice through FTIR microspectroscopy after implanting pluripotent stem cells," *APL Bioeng.*, vol. 7, no. 1, 2023, doi: 10.1063/5.0130383.
- [136] M. P. Devi *et al.*, "A novel wound dressing material- Fibrin-chitosan-sodium alginate composite sheet," *Bull. Mater. Sci.*, vol. 35, no. 7, pp. 1157–1163, 2012, doi: 10.1007/s12034-012-0404-5.
- [137] A. Gefen *et al.*, "Fluid handling by foam wound dressings: From engineering theory to advanced laboratory performance evaluations," *Int. Wound J.*, vol. 21, no. 2, pp. 1–25, 2024, doi: 10.1111/iwj.14674.
- [138] Q. K. Anjani, E. Utomo, J. Dom, U. Detamornrat, and R. F. Donnelly, "Simultaneous Quantification of Curcumin and D-Panthenol :," 2022.
- [139] L. Matsliah, D. Goder, S. Giladi, and M. Zilberman, "In vitro characterization of novel multidrug-eluting soy protein wound dressings," *https://doi.org/10.1177/0885328220975178*, vol. 35, no. 8, pp. 978–993, Dec.



2020, doi: 10.1177/0885328220975178.

- [140] K. Saravanakumar *et al.*, "Fucoidan-coated cotton dressing functionalized with biomolecules capped silver nanoparticles (LB-Ag NPs–FN–OCG) for rapid healing therapy of infected wounds," *Environ. Res.*, vol. 246, p. 118004, Apr. 2024, doi: 10.1016/J.ENVRES.2023.118004.
- [141] S. Jahandari, J. Li, M. Saberian, and M. Shahsavarigoughari, "Experimental study of the effects of geogrids on elasticity modulus, brittleness, strength, and stress-strain behavior of lime stabilized kaolinitic clay," *GeoResJ*, vol. 13, pp. 49–58, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.GRJ.2017.02.001.
- [142] R. Ma et al., "Nanocomposite sponges of sodium alginate/graphene oxide/polyvinyl alcohol as potential wound dressing: In vitro and in vivo evaluation," *Compos. Part B Eng.*, vol. 167, pp. 396–405, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.COMPOSITESB.2019.03.006.
- [143] Y. Feng *et al.*, "Mechanically robust and flexible silk protein/polysaccharide composite sponges for wound dressing," *Carbohydr. Polym.*, vol. 216, pp. 17–24, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2019.04.008.
- [144] C. M. Srivastava, R. Purwar, R. Kannaujia, and D. Sharma, "Flexible silk fibroin films for wound dressing," *Fibers Polym.*, vol. 16, no. 5, pp. 1020–1030, May 2015, doi: 10.1007/S12221-015-1020-Y.
- [145] B. Jørgensen, G. J. Friis, and F. Gottrup, "Pain and quality of life for patients with venous leg ulcers: proof of concept of the efficacy of Biatain®-Ibu, a new pain reducing wound dressing," *Wound Repair Regen.*, vol. 14, no. 3, pp. 233– 239, May 2006, doi: 10.1111/J.1743-6109.2006.00116.X.
- [146] C. Tan, Z. Yuan, F. Xu, and X. Xie, "Electrospun cellulose acetate wound dressings loaded with Pramipexole for diabetic wound healing: an in vitro and in vivo study," *Cellulose*, vol. 29, no. 6, pp. 3407–3422, Apr. 2022, doi: 10.1007/S10570-022-04466-0.
- [147] D. Kowalczuk and M. Pitucha, "Application of FTIR method for the assessment of immobilization of active substances in the matrix of biomedical materials," *Materials (Basel).*, vol. 12, no. 18, 2019, doi: 10.3390/ma12182972.





- [148] C. C. Q. Wong, K. Tomura, and O. Yamamoto, "Wound Healing Performance in a Moist Environment of Crystalline Glucose/Mannose Film as a New Dressing Material Using a Rat Model: Comparing with Medical-Grade Wound Dressing and Alginate," *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 11, 2023, doi: 10.3390/ph16111532.
- [149] C. Wiegand, M. Abel, P. Ruth, P. Elsner, and U. C. Hipler, "In vitro assessment of the antimicrobial activity of wound dressings: influence of the test method selected and impact of the pH," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 26, no. 1, 2015, doi: 10.1007/s10856-014-5343-9.
- [150] E. Drápalová et al., "Antimicrobial Cost-Effective Transparent Hydrogel Films from Renewable Gum Karaya/Chitosan Polysaccharides for Modern Wound Dressings," ACS Appl. Polym. Mater., vol. 5, no. 4, pp. 2774–2786, Apr. 2023, doi:

10.1021/ACSAPM.3C00025/ASSET/IMAGES/LARGE/AP3C00025\_0011.JPE G.

- [151] P. Du *et al.*, "In vivo and in vitro studies of a propolis-enriched silk fibroingelatin composite nanofiber wound dressing," *Heliyon*, vol. 9, no. 3, p. e13506, 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13506.
- [152] J. L. Amaya-Rivas *et al.*, "Future trends of additive manufacturing in medical applications: An overview," *Heliyon*, vol. 10, no. 5, p. e26641, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e26641.
- [153] B. Charbonnier, M. Hadida, and D. Marchat, "Additive manufacturing pertaining to bone: Hopes, reality and future challenges for clinical applications," *Acta Biomater.*, vol. 121, pp. 1–28, Feb. 2021, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2020.11.039.
- [154] B. Sun, Q. Ma, X. Wang, J. Liu, and M. R. M. Rejab, "Additive manufacturing in medical applications: A brief review," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 1078, no. 1, p. 012007, 2021, doi: 10.1088/1757-899x/1078/1/012007.
- [155] A. Butscher, M. Bohner, N. Doebelin, S. Hofmann, and R. Müller, "New depowdering-friendly designs for three-dimensional printing of calcium phosphate bone substitutes," *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 11, pp. 9149–9158, 2013, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2013.07.019.





- [156] R. E. Saunders, J. E. Gough, and B. Derby, "Delivery of human fibroblast cells by piezoelectric drop-on-demand inkjet printing," *Biomaterials*, vol. 29, no. 2, pp. 193–203, Jan. 2008, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2007.09.032.
- [157] T. Xu, W. Zhao, J. M. Zhu, M. Z. Albanna, J. J. Yoo, and A. Atala, "Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology," *Biomaterials*, vol. 34, no. 1, pp. 130–139, Jan. 2013, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.09.035.
- [158] B. Berman, "3-D printing: The new industrial revolution," *Bus. Horiz.*, vol. 55, no. 2, pp. 155–162, Mar. 2012, doi: 10.1016/J.BUSHOR.2011.11.003.
- [159] M. Salmi, "Additive manufacturing processes in medical applications," *Materials* (*Basel*)., vol. 14, no. 1, pp. 1–16, 2021, doi: 10.3390/ma14010191.
- [160] Ž. P. Kačarević *et al.*, "An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects," *Materials (Basel).*, vol. 11, no. 11, Nov. 2018, doi: 10.3390/MA11112199.
- [161] F. Tsegay, M. Elsherif, and H. Butt, "Smart 3D Printed Hydrogel Skin Wound Bandages: A Review," *Polymers (Basel).*, vol. 14, no. 5, Mar. 2022, doi: 10.3390/POLYM14051012.
- [162] D. T. Uchida and M. L. Bruschi, "3D Printing as a Technological Strategy for the Personalized Treatment of Wound Healing," *AAPS PharmSciTech*, vol. 24, no. 1, p. 3, Jan. 2023, doi: 10.1208/S12249-023-02503-0.
- [163] P. G. Manita, I. Garcia-orue, E. Santos-vizcaino, R. M. Hernandez, and M. Igartua, "3D Bioprinting of Functional Skin Substitutes: From Current Achievements to Future Goals," *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 4, 2021, doi: 10.3390/PH14040362.
- [164] J. Korpela, A. Kokkari, H. Korhonen, M. Malin, T. Narhi, and J. Seppalea, "Biodegradable and bioactive porous scaffold structures prepared using fused deposition modeling," *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 101, no. 4, pp. 610–619, 2013, doi: 10.1002/jbm.b.32863.
- [165] M. A. Luzuriaga, D. R. Berry, J. C. Reagan, R. A. Smaldone, and J. Jeremiah, "Biodegradable 3D Printed Polymer Microneedles for Transdermal Drug





Delivery," pp. 1–8.

- [166] C. Esposito Corcione *et al.*, "3D printing of hydroxyapatite polymer-based composites for bone tissue engineering," *J. Polym. Eng.*, vol. 37, no. 8, pp. 741– 746, Jan. 2017, doi: 10.1515/polyeng-2016-0194.
- [167] X. Chai *et al.*, "Fused deposition modeling (FDM) 3D printed tablets for intragastric floating delivery of domperidone," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–9, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-03097-x.
- [168] A. Melocchi, F. Parietti, A. Maroni, A. Foppoli, A. Gazzaniga, and L. Zema, "Hot-melt extruded fi laments based on pharmaceutical grade polymers for 3D printing by fused deposition modeling," *Int. J. Pharm.*, vol. 509, no. 1–2, pp. 255–263, 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.05.036.
- [169] A. Przybytek and H. Janik, "application in 3D printing," no. 4, pp. 32–39, 2016.
- [170] G. Verstraete *et al.*, "3D printing of high drug loaded dosage forms using thermoplastic polyurethanes," *Int. J. Pharm.*, vol. 536, no. 1, pp. 318–325, 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.12.002.
- [171] A. Przybytek and I. Gubańska, "Polyurethanes as a Potential Medical- -Grade Filament for Use in Fused Deposition Modeling 3D Printers – a Brief Review," vol. 6, no. 132, pp. 120–125, 2018, doi: 10.5604/01.3001.0012.5168.
- [172] Y. Tao, J. Shao, P. Li, and S. Q. Shi, "Application of a thermoplastic polyurethane/polylactic acid composite filament for 3D-printed personalized orthosis," *Mater. Tehnol.*, vol. 53, no. 1, pp. 71–76, 2019, doi: 10.17222/MIT.2018.180.
- [173] J.-J. Han and H.-X. Huang, "Preparation and characterization of biodegradable polylactide/thermoplastic polyurethane elastomer blends," J. Appl. Polym. Sci., vol. 120, no. 6, pp. 3217–3223, Jun. 2011, doi: 10.1002/APP.33338.
- [174] L. K. Prasad and H. Smyth, "3D Printing technologies for drug delivery: a review," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 42, no. 7, pp. 1019–1031, 2016, doi: 10.3109/03639045.2015.1120743.
- [175] N. Ranjan, R. Singh, I. P. S. Ahuja, and J. Singh, "Fabrication of PLA-HAp-CS Based Biocompatible and Biodegradable Feedstock Filament Using Twin Screw





Extrusion," Addit. Manuf. Emerg. Mater., pp. 325–345, Jan. 2019, doi: 10.1007/978-3-319-91713-9\_11.

- [176] A. Konta, M. García-Piña, and D. Serrano, "Personalised 3D Printed Medicines: Which Techniques and Polymers Are More Successful?," *Bioengineering*, vol. 4, no. 4, p. 79, 2017, doi: 10.1088/1742-6596/104/1/012014.
- [177] M. Sadia *et al.*, "Adaptation of pharmaceutical excipients to FDM 3D printing for the fabrication of patient-tailored immediate release tablets," *Int. J. Pharm.*, vol. 513, no. 1–2, pp. 659–668, 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.09.050.
- [178] Y. Lei, B. Rai, K. H. Ho, and S. H. Teoh, "In vitro degradation of novel bioactive polycaprolactone — 20 % tricalcium phosphate composite scaffolds for bone engineering," vol. 27, pp. 293–298, 2007, doi: 10.1016/j.msec.2006.05.006.
- [179] B. Rai, S. H. Teoh, D. W. Hutmacher, T. Cao, and K. H. Ho, "Novel PCL-based honeycomb scaffolds as drug delivery systems for rhBMP-2," *Biomaterials*, vol. 26, no. 17, pp. 3739–3748, 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.09.052.
- [180] C. E. Corcione, F. Gervaso, F. Scalera, and F. Montagna, "3D printing of hydroxyapatite polymer-based composites for bone tissue engineering," pp. 1–6, 2017, doi: 10.1515/polyeng-2016-0194.
- [181] C. I. Gioumouxouzis, O. L. Katsamenis, N. Bouropoulos, and D. G. Fatouros, "3D printed oral solid dosage forms containing hydrochlorothiazide for controlled drug delivery," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 40, pp. 164–171, 2017, doi: 10.1016/j.jddst.2017.06.008.
- [182] R. C. R. Beck *et al.*, "3D printed tablets loaded with polymeric nanocapsules : An innovative approach to produce customized drug delivery systems," vol. 528, pp. 268–279, 2017.
- [183] T. C. Okwuosa, D. Stefaniak, B. Arafat, A. Isreb, K. W. Wan, and M. A. Alhnan, "A Lower Temperature FDM 3D Printing for the Manufacture of Patient-Specific Immediate Release Tablets," *Pharm. Res.*, vol. 33, no. 11, pp. 2704–2712, 2016, doi: 10.1007/s11095-016-1995-0.
- [184] S. Madan and S. Madan, "Hot melt extrusion and its pharmaceutical applications," vol. 7, no. 2, pp. 123–133, 2012.





- [185] M. Cunha-Filho, M. R. Araújo, G. M. Gelfuso, and T. Gratieri, "FDM 3D printing of modified drug-delivery systems using hot melt extrusion: A new approach for individualized therapy," *Ther. Deliv.*, vol. 8, no. 11, pp. 957–966, 2017, doi: 10.4155/tde-2017-0067.
- [186] M. Kotlarz *et al.*, "One step 3D printing of surface functionalized composite scaffolds for tissue engineering applications," *Acta Bioeng. Biomech.*, vol. 20, no. 2, pp. 35–45, 2018, doi: 10.5277/ABB-01131-2018-02.
- [187] N. Genina, J. Holländer, H. Jukarainen, E. Mäkilä, J. Salonen, and N. Sandler, "Ethylene vinyl acetate (EVA) as a new drug carrier for 3D printed medical drug delivery devices," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 90, pp. 53–63, 2016, doi: 10.1016/j.ejps.2015.11.005.
- [188] S. N. Economidou, D. A. Lamprou, and D. Douroumis, "3D printing applications for transdermal drug delivery," *Int. J. Pharm.*, vol. 544, no. 2, pp. 415–424, 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.031.
- [189] I. Carayon *et al.*, "Polyurethane based hybrid ciprofloxacin-releasing wound dressings designed for skin engineering purpose," *Adv. Med. Sci.*, vol. 67, no. 2, pp. 269–282, Sep. 2022, doi: 10.1016/J.ADVMS.2022.05.003.
- [190] K. Justyna, G. Iga, K. Olexandr, and M. Khrystyna, "The Influence of Calcium Glycerophosphate (GPCa) Modifier on Physicochemical, Mechanical, and Biological Performance of Polyurethanes Applicable as Biomaterials for Bone Tissue Scaffolds Fabrication", doi: 10.3390/polym9080329.
- [191] M. Mohseni, D. Hutmacher, and N. Castro, "Independent Evaluation of Medical-Grade Bioresorbable Filaments for Fused Deposition Modelling/Fused Filament Fabrication of Tissue Engineered Constructs," *Polymers (Basel).*, vol. 10, no. 1, p. 40, Jan. 2018, doi: 10.3390/polym10010040.
- [192] P. Szarlej *et al.*, "Composite polyurethane-polylactide (Pur/pla) flexible filaments for 3d fused filament fabrication (fff) of antibacterial wound dressings for skin regeneration," *Materials* (*Basel*)., vol. 14, no. 20, 2021, doi: 10.3390/ma14206054.
- [193] A. Haryńska, J. Kucinska-Lipka, A. Sulowska, I. Gubanska, M. Kostrzewa, and





H. Janik, "Medical-Grade PCL Based Polyurethane System for FDM 3D Printing—Characterization and Fabrication," *Materials (Basel).*, vol. 12, no. 6, p. 887, 2019, doi: 10.3390/ma12060887.

- [194] A. Haryńska *et al.*, "A comprehensive evaluation of flexible FDM/FFF 3D printing filament as a potential material in medical application," *Eur. Polym. J.*, vol. 138, p. 109958, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109958.
- [195] S. J. Stachelek *et al.*, "Prevention of oxidative degradation of polyurethanes by covalent attachment of di-tertbutylphenol residues," *J Biomed Mater Res*, vol. 78A, pp. 653–661, 2006, doi: 10.1002/jbm.a.
- [196] C. Iga, S. Pawel, L. Marcin, and K. L. Justyna, "Polyurethane composite scaffolds modified with the mixture of gelatin and hydroxyapatite characterized by improved calcium deposition," *Polymers (Basel).*, vol. 12, no. 2, pp. 1–18, 2020, doi: 10.3390/polym12020410.
- [197] J. Kucińska-Lipka, A. Lewandowska, P. Szarlej, M. S. Łapiński, and I. Gubańska, "Degradable poly(ester-ether) urethanes of improved surface calcium deposition developed as novel biomaterials," *J. Bioact. Compat. Polym.*, p. 088391151985411, 2019, doi: 10.1177/0883911519854114.
- [198] M. V Uspenskaya, V. E. Sitnikova, E. Vera, and I. Y. Denisyuk, "World's largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher Sorption Properties of Clay and Pectin-Containing Hydrogels Sorption Properties of Clay and Pectin-Containing Hydrogels", doi: 10.5772/intechopen.71190.
- [199] I. Katime and E. Mendizábal, "Swelling Properties of New Hydrogels Based on the Dimethyl Amino Ethyl Acrylate Methyl Chloride Quaternary Salt with Acrylic Acid and 2-Methylene Butane-1,4-Dioic Acid Monomers in Aqueous Solutions," *Mater. Sci. Appl.*, vol. 01, no. 03, pp. 162–167, 2010, doi: 10.4236/msa.2010.13026.
- [200] S. Sharma, A. Dua, and A. Malik, "Biocompatible stimuli responsive superabsorbent polymer for controlled release of GHK-Cu peptide for wound dressing application," pp. 1–8, 2017, doi: 10.1007/s10965-017-1254-z.
- [201] R. S. H. Wong, M. Ashton, and K. Dodou, "Effect of crosslinking agent





concentration on the properties of unmedicated hydrogels," *Pharmaceutics*, vol. 7, no. 3, pp. 305–319, 2015, doi: 10.3390/pharmaceutics7030305.

- [202] K. M. El Salmawi, "Application of polyvinyl alcohol (PVA)/carboxymethyl cellulose (CMC) hydrogel produced by conventional crosslinking or by freezing and thawing.," *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 44, pp. 619–624, 2007.
- [203] M. T. García, M. T. T. Junco, M. G. Martín, and Z. G. Lama, "Selection of subpopulations resistant to amikacin and netilmicin of gentamicin-resistant clinical strains of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis," *Zentralblatt fur Bakteriol.*, vol. 284, no. 1, pp. 58–66, Jun. 1996, doi: 10.1016/s0934-8840(96)80154-x.
- [204] A. Haryńska, J. Kucinska-Lipka, A. Sulowska, I. Gubanska, M. Kostrzewa, and H. Janik, "Medical-grade PCL based polyurethane system for FDM 3D printingcharacterization and fabrication," *Materials (Basel).*, vol. 12, no. 6, 2019, doi: 10.3390/ma12060887.
- [205] L. H. Chan-Chan *et al.*, "Degradation studies on segmented polyurethanes prepared with HMDI, PCL and different chain extenders," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 6, pp. 2035–2044, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.12.010.
- [206] A. G. Devi S.A., Philip D., "Infrared, Polarized Raman, and SERS Spectra of Borax," J. Solid State Chem., vol. 113, no. 1, pp. 157–162, 1994.
- [207] L. J. X. Brady J., Dürig T., Lee P.I., Chapter 7 Polymer Properties and Characterization, Developing Solid Oral Dosage Forms (Second Edition), Pharmaceutical Theory and Practice. 2017.
- [208] E. Marin, J. Rojas, and Y. Ciro, "A review of polyvinyl alcohol derivatives: Promising materials for pharmaceutical and biomedical applications," *African J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 8, no. 24, pp. 674–684, 2014, doi: 10.5897/AJPP2013.3906.
- [209] V. Jašo, M. Cvetinov, S. Rakić, and Z. S. Petrović, "Bio-plastics and elastomers from polylactic acid/thermoplastic polyurethane blends," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 131, no. 22, p. n/a-n/a, Nov. 2014, doi: 10.1002/app.41104.





- [210] Y. F. Buys, M. S. Ahmad, H. Anuar, M. S. Mahmud, and N. A. Mohd Nasir, "MECHANICAL PROPERTIES, MORPHOLOGY, AND HYDROLYTIC DEGRADATION BEHAVIOR OF POLYLACTIC ACID / THERMOPLASTIC POLYURETHANE BLENDS," *IIUM Eng. J.*, vol. 21, no. 1, pp. 193–201, Jan. 2020, doi: 10.31436/iiumej.v21i1.1051.
- [211] Z. Yang, H. Peng, W. Wang, and T. Liu, "Crystallization behavior of poly(εcaprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites," J. Appl. Polym. Sci., vol. 116, no. 5, pp. 2658–2667, 2010, doi: 10.1002/app.
- [212] D. Y. Zuo, L. Zhang, C. H. Yi, and H. T. Zuo, "Effects of compatibility of poly(L-lactic-acid) and thermoplastic polyurethane on mechanical property of blend fiber," *Polym. Adv. Technol.*, vol. 25, no. 12, pp. 1406–1411, 2014, doi: 10.1002/pat.3382.
- [213] M. Bains, S. T. Balke, D. Reck, and J. Horn, "The compatibility of linear low density polyethylene-polypropylene blends: Viscosity ratio plots," *Polym. Eng. Sci.*, vol. 34, no. 16, pp. 1260–1268, Aug. 1994, doi: 10.1002/PEN.760341606.
- [214] Y. Pang, X. Dong, Y. Zhao, C. C. Han, and D. Wang, "Phase separation induced morphology evolution and corresponding impact fracture behavior of iPP/PEOc blends," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 121, no. 1, pp. 445–453, Jul. 2011, doi: 10.1002/APP.33686.
- [215] Y. Pang, X. Dong, Y. Zhao, C. C. Han, and D. Wang, "Time evolution of phase structure and corresponding mechanical properties of iPP/PEOc blends in the late-stage phase separation and crystallization," *Polymer (Guildf).*, vol. 48, no. 21, pp. 6395–6403, Oct. 2007, doi: 10.1016/J.POLYMER.2007.08.032.
- [216] C. F. Van Nostrum, T. F. J. Veldhuis, G. W. Bos, and W. E. Hennink, "Hydrolytic degradation of oligo(lactic acid): A kinetic and mechanistic study," *Polymer (Guildf).*, vol. 45, no. 20, pp. 6779–6787, 2004, doi: 10.1016/j.polymer.2004.08.001.
- [217] G. Gorrasi and R. Pantani, "Hydrolysis and Biodegradation of Poly(lactic acid)," *Adv. Polym. Sci.*, vol. 279, no. May 2017, pp. 119–151, 2018, doi: 10.1007/12\_2016\_12.





- [218] N. A. Ramlee and Y. Tominaga, "Mechanical and degradation properties in alkaline solution of poly(ethylene carbonate)/poly(lactic acid) blends," *Polymer* (*Guildf*)., vol. 166, pp. 44–49, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.polymer.2019.01.043.
- [219] J. V., L. H., F. Hernandez-Sanchez, and J. M., "Degradation of Polyurethanes for Cardiovascular Applications," *Adv. Biomater. Sci. Biomed. Appl.*, 2013, doi: 10.5772/53681.
- [220] A. Przybytek, M. Sienkiewicz, J. Kucińska-Lipka, and H. Janik, "Preparation and characterization of biodegradable and compostable PLA/TPS/ESO compositions," *Ind. Crops Prod.*, vol. 122, pp. 375–383, 2018, doi: 10.1016/j.indcrop.2018.06.016.
- [221] S. Körber, K. Moser, and J. Diemert, "Development of High Temperature Resistant Stereocomplex PLA for Injection Moulding," *Polymers (Basel).*, vol. 14, no. 3, 2022, doi: 10.3390/polym14030384.
- [222] S. Mondal and D. Martin, "Hydrolytic degradation of segmented polyurethane copolymers for biomedical applications," *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 97, no. 8, pp. 1553–1563, 2012, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2012.04.008.
- [223] W. Ahmed, Z. Zhai, and C. Gao, "Adaptive antibacterial biomaterial surfaces and their applications," *Mater. Today Bio*, vol. 2, p. 100017, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.mtbio.2019.100017.
- [224] M. Huang, Y. Hou, Y. Li, D. Wang, and L. Zhang, "High performances of dual network PVA hydrogel modified by PVP using borax as the structure-forming accelerator," *Des. Monomers Polym.*, vol. 20, no. 1, pp. 505–513, 2017, doi: 10.1080/15685551.2017.1382433.
- [225] J. G. Lyons, L. M. Geever, M. J. D. Nugent, J. E. Kennedy, and C. L. Higginbotham, "Development and characterisation of an agar polyvinyl alcohol blend hydrogel," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 2, no. 5, pp. 485–493, 2009, doi: 10.1016/j.jmbbm.2008.12.003.
- [226] H. Pan *et al.*, "Preparation and characterization of breathable hemostatic hydrogel dressings and determination of their effects on full-thickness defects," *Polymers* (*Basel*)., vol. 9, no. 12, 2017, doi: 10.3390/polym9120727.





- [227] Y. Dong *et al.*, "Poly(N-isopropyl-acrylamide)/poly(γ-glutamic acid) thermosensitive hydrogels loaded with superoxide dismutase for wound dressing application," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 1939–1950, 2020, doi: 10.2147/IJN.S235609.
- [228] D. Li *et al.*, "A novel self-healing triple physical cross-linked hydrogel for antibacterial dressing," *J. Mater. Chem. B*, vol. 9, no. 34, pp. 6844–6855, Sep. 2021, doi: 10.1039/D1TB01257F.
- [229] J. Liu *et al.*, "Hemicellulose-reinforced nanocellulose hydrogels for wound healing application," *Cellulose*, vol. 23, no. 5, pp. 3129–3143, 2016, doi: 10.1007/s10570-016-1038-3.
- [230] J. I. Ngadaonye, L. M. Geever, J. Killion, and C. L. Higginbotham, "Development of novel chitosan-poly(N,N-diethylacrylamide) IPN films for potential wound dressing and biomedical applications," *J. Polym. Res.*, vol. 20, no. 7, 2013, doi: 10.1007/s10965-013-0161-1.
- [231] Y. Wu, J. Liang, F. Horkay, and M. Libera, "Antimicrobial Loading into and Release from Poly (ethylene glycol)/ Poly (acrylic acid) Semi-interpenetrating Hydrogels," no. Darocur 1173, pp. 64–72, 2016, doi: 10.1002/polb.23924.
- [232] F. E. Jones and G. L. Harris, "ITS-90 density of water formulation for volumetric standards calibration," *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, vol. 97, no. 3, pp. 335– 340, 1992, doi: 10.6028/jres.097.013.
- [233] X. Sun, "Facile fabrication of tough and biocompatible hydrogels from polyvinyl alcohol and agarose," no. February, pp. 1–10, 2021, doi: 10.1002/app.50979.
- [234] S. Spoljaric, A. Salminen, N. D. Luong, and J. Seppälä, "Stable, self-healing hydrogels from nanofibrillated cellulose, poly(vinyl alcohol) and borax via reversible crosslinking," *Eur. Polym. J.*, vol. 56, no. 1, pp. 105–117, 2014, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.03.009.
- [235] C. Cheng *et al.*, "Function tannic acid with e ffi cient hemostatic and antibacterial capacity for wound dressing <sup>†</sup>," pp. 9622–9634, 2022, doi: 10.1039/d2fo02251f.
- [236] E. A. Appel, X. J. Loh, S. T. Jones, F. Biedermann, C. A. Dreiss, and O. A. Scherman, "Ultrahigh-water-content supramolecular hydrogels exhibiting





multistimuli responsiveness," J. Am. Chem. Soc., vol. 134, no. 28, pp. 11767–11773, 2012, doi: 10.1021/ja3044568.

- [237] E. A. Elhefian, "Preparation and Characterization of Chitosan / Agar Blended Films: Part 1 . Chemical Structure and Morphology Preparation and Characterization of Chitosan / Agar Blended Films: Part 1 . Chemical Structure and Morphology," no. January 2012, 2014.
- [238] C. Swart-pistor and B. Chaudhary, "Synthesis , characterization , and antimicrobial activity of superabsorbents based on agar – poly (methacrylic," 2016, doi: 10.1177/0883911516653148.
- [239] S. Kumar, J. Chandra, D. Ray, A. Mukherjee, and J. Dutta, "Heliyon Bionanocomposite fi lms of agar incorporated with ZnO nanoparticles as an active packaging material for shelf life extension of green grape," *Heliyon*, vol. 5, no. May, p. e01867, 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01867.
- [240] A. Chirapart, M. Ohno, H. Ukedal, M. Sawamural, and H. Kusunosel, "Chemical composition of agars from a newly reported Japanese agarophyte, Gracilariopsis lemaneiformis," pp. 359–365, 1995.
- [241] A. M. N. Santos *et al.*, "Physically cross-linked gels of PVA with natural polymers as matrices for manuka honey release in wound-care applications," *Materials (Basel).*, vol. 12, no. 2, 2019, doi: 10.3390/ma12040559.
- [242] A. Kharazmi, N. Faraji, E. Saion, and W. M. M. Yunus, "Structural, optical, opto-thermal and thermal properties of ZnS – PVA nanofluids synthesized through a radiolytic approach," no. March, 2015, doi: 10.3762/bjnano.6.55.
- [243] I. M. Deleanu, A. Stoica, M. Stroescu, and L. M. Dobre, "Potassium sorbate release from poly (vinyl alcohol) – bacterial cellulose films Potassium sorbate release from poly (vinyl alcohol) – bacterial," no. February, 2012, doi: 10.2478/s11696-011-0068-4.
- [244] O. Koysuren, M. Karaman, and H. Dinc, "Preparation and Characterization of Polyvinyl Borate / Polyvinyl Alcohol (PVB / PVA) Blend Nanofibers," vol. 124, no. February 2011, pp. 2736–2741, 2012, doi: 10.1002/app.
- [245] I. Yanase, R. Ogawara, and H. Kobayashi, "Synthesis of boron carbide powder





from polyvinyl borate precursor," *Mater. Lett.*, vol. 63, no. 1, pp. 91–93, 2009, doi: 10.1016/j.matlet.2008.09.012.

- [246] M. Shahmiri, N. A. Ibrahim, W. M. Z. W. Yunus, K. Shameli, N. Zainuddin, and H. Jahangirian, "Synthesis and Characterization of CuO Nanosheets in Polyvinylpyrrolidone by Quick Precipitation Method," *Adv. Sci. Eng. Med.*, vol. 5, no. 3, pp. 193–197, 2012, doi: 10.1166/asem.2013.1227.
- [247] U. K. Sharma, A. Verma, S. K. Prajapati, H. Pandey, and A. C. Pandey, "In vitro, in vivo and pharmacokinetic assessment of amikacin sulphate laden polymeric nanoparticles meant for controlled ocular drug delivery," *Appl. Nanosci.*, vol. 5, no. 2, pp. 143–155, 2015, doi: 10.1007/s13204-014-0300-y.
- [248] J. F. Ovalles, M. Gallignani, M. R. Brunetto, R. A. Rondón, and C. Ayala, "Reagent-free determination of amikacin content in amikacin sulfate injections by FTIR derivative spectroscopy in a continuous fl ow system," vol. 4, no. 2, pp. 125–131, 2014, doi: 10.1016/j.jpha.2013.08.001.
- [249] R. Marie, L. Helberg, Z. Dai, L. Ansaloni, and L. Deng, "ScienceDirect PVA / PVP blend polymer matrix for hosting carriers in facilitated transport membranes: Synergistic enhancement of CO 2 separation performance," *Green Energy Environ.*, vol. 5, no. 1, pp. 59–68, 2020, doi: 10.1016/j.gee.2019.10.001.





# WYKAZ RYSUNKÓW

Rys. 1.1. Etapy gojenia się rany

**Rys. 1.2.** Zależność stężenia substancji aktywnej od czasu dla kontrolowanego, pulsacyjnego i natychmiastowego uwalniania

Rys. 1.3. Przykład przezroczystego komercyjnego opatrunku OptiView Transparent Dressing ®

**Rys. 1.4.** Przykładowe wzory strukturalne polimerów wykorzystywanych do syntezy hydrożeli pochodzenia naturalnego (N) oraz syntetycznego (S)

Rys. 1.5. Schematyczne przedstawienie opatrunku hydroprzewodzącego (kompozytowego)

**Rys. 1.6.** Obraz przedstawiający: a) komputerowy model ortezy palca wskazującego, b) wydrukowaną ortezę palca wskazującego z kompozytowego filamentu PUR/PLA

Rys. 2.1. Plan pracy badawczej w części eksperymentalnej pracy doktorskiej

**Rys. 3.1.** Schemat otrzymywania hybrydowej warstwy absorpcyjnej typu A (tłumaczenie na język polski na podstawie publikacji *Carayon I., <u>Szarlej. P.</u> et al. Polyurethane based hybrid ciprofloxacin-releasing wound dressings designed for skin engineering purpose)* 

**Rys. 3.2.** Projekty drukowanych matryc porowatych B o róznych kształtach wypełnienia: a) heksagonalnym, b) liniowym oraz c) trójkątnym (wykonano samodzielnie w oprogramowaniu *FlashPrint*)

**Rys. 3.3**. Fotografia płytek testowych dołkowych stosowanych do otrzymywania opatrunków o srednicy 3,4 cm

**Rys. 4.1.** Polimerowe matryce porowate o wypełnieniu (od lewej): heksagonalnym, liniowym oraz trójkątnym

**Rys. 5.1.** Mikroskopia optyczna matryc porowatyc A (CPMs): a) PUR/10PVA, b) PUR/20PVA, c) PUR/30PVA, d) PUR/10PLA, e) PUR/20PLA, f) PUR/30PLA (powiększenie 800x).

**Rys. 5.2.** Średnia porowatość ( $\pm$  odchylenie standardowe) otrzymanych matryc porowatych A (CPMs) (n = 10).

**Rys. 5.3.** Średni rozmiar porów ( $\pm$  odchylenie standardowe) oraz zakresy wielkości porów otrzymanych matryc porowatych A (CPMs) (n = 10).





**Rys. 5.4.** Średni ubytek masy matryc porowatych A (CPMs) w odniesieniu do składu kompozycji PUR i PLA w 2M HCl (\*róznica istotna statystycznie:  $\alpha = 0,05$ , n = 3).

**Rys. 5.5.** Średni ubytek masy matryc porowatych A (CPMs) w odniesieniu do składu kompozycji PUR/PLA lub PUR/PVA w 5M NaOH (\*róznica istotna statystycznie:  $\alpha = 0,05$ , n = 3).

Rys. 5.6. Średnia utrata masy CPMs w odniesieniu do składu kompozycji PUR/PLA lub PUR/PVA

w 0,01 M PBS.

**Rys. 5.7.** Widmo FTIR dla PVA oraz hydrożeli niezmodyfikowanych cyprofloksacyny (UnMHs: **H1**- hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 1:1 (wag./wag.) , **H2** - hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 2:1 (wag./wag.) , **H3** - Hydrożel z roztworów PVA i boraksu w proporcji 3:1 (wag./wag.)).

**Rys. 5.8.** Widma FTIR hydrożeli zmodyfikowanych cyprofloksacyny (CMHs: **H4** – hydrożel sporządzony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 1:1 (wag./wag.), **H5** – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 2:1 (wag./wag.), **H6** – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.)) oraz substancji aktywnej - cyprofloksacyny.

**Rys. 5.9.** Wybrane obrazy SEM pokazujące kraterowate struktury na powierzchni H4 CLH oraz brak tych struktur na powierzchni CLH H5 i H6 (powiększenie 2500x).

**Rys. 5.10.** Widma EDX dla CLHs: **H4** – hydrożel sporządzony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 1:1 (wag./wag.), **H5** – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 2:1 (wag./wag.), **H6** – hydrożel złożony z roztworu 4% PVA, 1,5% Cipro i 10% LAA zmieszany z roztworem boraksu w stosunku 3:1 (wag./wag.)) oraz substancji aktywnej – cyprofloksacyny

Rys. 5.11. Schemat przygotowania próbek do badania uwalniania cyprofloksacyny.

**Rys. 5.12.** Stężenie uwolnionego Cipro po 5 i 15 min dla opatrunków kompozytowych F-HAL1, F-HAL2, F-HAL3, F-HAL4, F-HAL5 i F-HAL6 (\* różnica istotna statystrycznie:  $\alpha = 0,05, n = 3$ ).





**Rys. 5.13.** Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 min dla opatrunków F-HAL1, F-HAL2, F-HAL3, F-HAL4, F-HAL5 i F-HAL6 na 1 mg opatrunku (\*różnica istotna statystycznie:  $\alpha = 0,05$ , n = 3).

**Rys. 5.14.** Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 minutach, 24 godzinach i 7 dniach dla opatrunku kompozytowego F-HAL6.

**Rys. 5.15.** Ilość uwolnionego Cipro po 5 i 15 minutach, 24 godzinach i 7 dniach dla opatrunku kompozytowego F-HAL6 na 1 mg opatrunku.

**Rys. 5.16.** Wyniki próby wytrzymałościowej: a) wytrzymałość na rozciąganie ( $T_{SB}$ ), b) wydłużenie przy zerwaniu ( $\varepsilon$ ), c) odkształcenie trwałe ( $\varepsilon_p$ ), d) moduł Younga (E)

**Rys. 5.17.** Fotografie materiałów: a) COMP-7,5PLA i b) TPU przedstawiające powierzchnie powstałe po zerwaniu podczas prób wytrzymałości na rozciąganie

Rys. 5.18. Twardość otrzymanych materiałów w zależności od składu

**Rys. 5.19.**Widma FTIRfilamentów wykonanych z TPU, PLA i kompozycji COMP-2,5 – COMP-12,5

Rys. 5.20. Fotografie SEM otrzymanych filamentów

**Rys. 5.21.** Zmiana masy filamentów poddanych badaniu degradacji krótkoterminowej (a) i widma FTIR filamentów COMP-7,5PLA przed i po procesie degradacji w 0,1M CoCl<sub>2</sub> w 20% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2M HCl i %M NaOH (b)

**Rys. 5.22.** Fotografie próbek filamentów przed i po procesie degradacji krótkoterminowej w 5M roztworze NaOH

Rys. 5.23. Zmiana masy próbek filamentów poddanych kalcyfikacji w roztworze Golomba -Wagnera

Rys. 5.24. Mikroskopia optyczna próbek filamentów przed i po procesie kalcyfikacji

**Rys. 5.25.** Fotografie przedstawiające: a) otrzymany filament COMP-7,5PLA o średnicy 3 mm, a także matryce porowate B o wypełnieniu: b) heksagonalnym, c) liniowym oraz d) trójkątnym

**Rys. 5.26.** Strefy zahamowania wzrostu wobec szczepów: *A) E.coli, B) P. fluorescens, C) S. aureus, D) S. epidermidis dla filamentu AMI-1* 





**Rys. 5.27.** Krzywa kalibracyjna dla siarczanu (VI) amikacyny w przedziale stężeń 2,5 - 75  $\mu g/ml$ 

Rys. 5.28. Czasowy profil uwalniania siarczanu (VI) amikacyny z filamentu AMI-1

**Rys. 5.29.** Piki chromatograficzne siarczanu (VI) amikacyny uwolnionego z: A) filamentu AMI-1 po 7 dniach oddziaływania z wodą, B) filamentu AMI-2 po 7 dniach oddziaływania z wodą

**Rys. 5.30.** Średni rozmiar porów ( $\pm$  odchylenie standardowe) oraz zakresy wielkości porów otrzymanych matryc porowatych B (n = 10)

**Rys. 5.31**. Wykres zależności naprężenia od wydłużenia dla trzech próbek matryc o wypełnieniu heksagonalnym

**Rys. 5.32**. Wykres zależności naprężenia od wydłużenia dla trzech próbek matryc o wypełnieniu liniowym

**Rys. 5.33**. Wykres zależności naprężenia od wydłużenia dla trzech próbek matryc o wypełnieniu trójkątnym

**Rys. 5.34.** Fotografie powierzchni powierzchni hydrożeli: AG/0.8PVP/0.8BOR (po lewej) i AG/0.8PVP/0.8BOR/AM (po prawej) obserwowane za pomocą mikroskopu optycznego (skala: 200 µm)

**Rys. 5.35.** Fotografie powierzchni hydrożeli : AG/0.8PVA/0.8BOR (po lewej) i AG/0.8PVA/0.8BOR/AM (po prawej) uzyskane za pomocą mikroskopu optycznego (skala: 200 μm)

**Rys. 5.36.** Krzywe pęcznienia dla hydrożeli niezmodyfikowanych siarczanem amikacyny, zawierających różne ilości agaru oraz: a) tetraboranu sodu, b) PVA i tetraboranu sodu oraz c) PVP i tetraboranu sodu

**Rys. 5.37.** Eksperymentalny przebieg pęcznienia dla hydrożelu AG (kropki) i krzywe dopasowane zgodnie z modelami pierwszego rzędu, drugiego rzędu i Korsmeyera – Peppasa

**Rys. 5.38.** Eksperymentalny przebieg pęcznienia (kropki) dla hydrożeli: a) AG/0.8PVA/0.8BOR, b) AG/0.8PVA/0.8BOR/AM, c) AG/0.8PVP/0.8BOR, oraz d) AG/0.8PVP/0.8BOR/AM i krzywe dopasowane do modeli pierwszego rzędu, drugiego rzędu i Korsmeyera – Peppasa





**Rys. 5.39**. Porównanie kinetycznych parametrów pęcznienia hydrożeli: a)  $W_{eq}(I rzędu)$ , b)  $K_1$  (I rzędu), c)  $W_{eq}(II rzędu)$ , d)  $K_2$  (II rzędu), e) n (model Korsmeyera-Peppasa) i f)  $K_{KP}$ (model Korsmeyera-Peppasa) w zależności od zawartość tetraboran sodu dla wszystkich zsyntetyzowanych hydrożeli

**Rysunek 5.40.** Widma FTIR dla próbek hydrożeli zawierających różne ilości agaru i: a) tetraboranu sodu, b) PVA i tetraboranu sodu oraz c) PVP i tetraboranu sodu

**Rys. 5.41.**Widma FTIR dla siarczanu amikacyny oraz próbek hydrożeli: AG/0,8PVP/0,8BOR i AG/0,8PVP/0,8BOR/AM

Rys. 5.42. Pomiary kąta zwilżania dla: a) AG/0,8PVP/0,8BOR ib) AG/0,8PVP/0,8BOR/AM

Rys. 5.43. Pomiary kąta zwilżania dla: a) AG/0,8PVA/0,8BOR i b) AG/0,8PVA/0,8BOR/AM

**Rys. 5.44.** Aktywność antybakteryjna przeciwko *S. epidermidis* (szczep ATCC 35984) oraz *E. coli* (szczep ATCC 25922) wybranych warstw hydrożelowych

**Rys. 5.45**. Wykres zależności skumulowanego uwalniania AMI z badanych hydrożeli HB\_1 oraz HB 2 w zależności od czasu

Rys. 5.46. Opatrunki powstałe z połączenia wszystkich warstw, umieszczone w płytce testowej

**Rys. 5.47**. Badania cytotoksyczności hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 wobec wybranych ludzkich komórek (\*różnica istotna statystycznie:  $\alpha = 0.05$ , n = 3, test U-Manna Whitneya).

**Rys. 5.48**. Badania wpływu hydrożeli HO\_1 oraz HO\_2 na proliferację wybranych ludzkich komórek (\*różnica istotna statystycznie:  $\alpha = 0.05$ , n = 3, test U-Manna Whitneya).





## WYKAZ TABEL

Tabela 1.1. Rodzaje opatrunków tradycyjnych

**Tabela 1.2.** Przegląd opatrunków dostępnych na rynku według rosnącej ilości warstw wraz z rodzajem warstw, funkcjami i zastosowaniami (wybrane przykłady)

**Tabela 3.1.**Symbole otrzymanych kompozytowych matryc porowatych (CPMs) wraz z ich krótkim opisem.

**Tabela 3.2.** Symbole otrzymanych hydrożeli A niezmodyfikowanych cyprofloksacyną(UnMHs) oraz zmodyfikowanych cyprofloksacyną (CLHs) wraz z ich krótkim opisem

**Tabela 3.3.** Symbole otrzymanych hybrydowych warstw absorpcyjnych (F-HALs) wraz z ich krótkim opisem.

Tabela 3.4. Symbole, parametry wytłaczania i opis próbek uzyskanych filamentów

Tabela 3.5. Parametry wydruku porowatych matryc polimerowych

Tabela 3.6. Symbole próbek hydrożeli i ich skład

Tabela 3.7. Skład hydrożeli zmodyfikowanych siarczanem amikacyny

Tabela 4.1. Parametry statycznej próby rozciągania

Tabela 4.2. Warunki chromatograficzne.

Tabela 4.3. Skład matryc hydrożelowych B zmodyfikowanych siarczanem (VI) amikacyny

**Tabela 5.1.** Szczegółowy opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) przedstawionych na **Rys. 4.16** (PVA i UnMH).

**Tabela 5.2.** Opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) przedstawionych na **Rys. 5.8** (Cipro).

**Tabela 5.3.** Opis pasm widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) przedstawionych na **Rys. 5.8** (CLHs, H4 - H6).

Tabela 5.4. Masa i zawartość atomowa pierwiastków w hydrożelach H4, H5 i H6.





Tabela 5.5. Podsumowanie badań mikrobiologicznych

Tabela 5.6. Parametry kalibracyjne

**Tabela 5.7**. Średnie wartości wytrzymałości na rozciaganie i wudłużenia przy zerwaniu matryc porowatych typu B wraz z odchyleniami standardowymi (n = 3)

**Tabela 5.8**. Parametry pęcznienia uzyskane z różnych modeli matematycznych kinetyki pęcznienia hydrożeli

**Tabela 5.9.** Gęstość (dp), średnia masa cząsteczkowa między węzłami sieci (Mc) oraz gęstość usieciowania (ρc) dla hydrożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych siarczanem amikacyny

**Tabela 5.10.** Średnia równowagowa zawartość wody w hydrożelach wraz z odchyleniem standardowym

**Tabela 5.11.** Kąt zwilżania, energia powierzchniowa i praca adhezji dla hydrożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych siarczanem amikacyny

**Tabela 5.12.** Skumulowane uwalnianie AMI (CR) z hydrożeli wraz z odchyleniem standardowym (SD) (n = 3).





## WYKAZ DOROBKU NAUKOWEGO

#### Publikacje naukowe (opublikowane):

 M. Potrykus, V. Redko, K. Głowacka, A. Piotrowicz-Cieślak, P. Szarlej, H. Janik, Wolska L.: *Polypropylene structure alterations after 5 years of natural degradation in a waste landfill*, Science of the Total Environment - Vol. 758, (2021), s.143649, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143649 (czasopismo z listy MEiN, 200 pkt., Q1, IF (2021) = 10,753)

2) Szarlej P., Carayon I., Gnatowski P., Glinka M., Mroczyńska M., Brillowska-Dąbrowska A., Kucińska-Lipka J.: *Composite Polyurethane-Polylactide (PUR/PLA) Flexible Filaments for 3D Fused Filament Fabrication (FFF) of Antibacterial Wound Dressings for Skin Regeneration//* Materials - Vol. 14,iss. 20 (2021), s.6054czasopismo z listy MEiN, 140 pkt., Q2, IF (2021) = 3,748)

3) I. Carayon, P. Szarlej, P. Gnatowski, E. Piłat, M. Sienkiewicz, M. Glinka, J. Karczewski, J. Kucińska-Lipka: *Polyurethane based hybrid ciprofloxacin-releasing wound dressings designed for skin engineering purpose//* Advances in Medical Sciences -,iss. 67/2 (2022), s.269-282 (czasopismo z listy MEiN, 100 pkt., Q1, IF (2022) = 2,852)

4) I. Carayon, **P. Szarlej**, M. Łapiński, J. Kucińska-Lipka, *Polyurethane Composite Scaffolds Modified with the Mixture of Gelatin and Hydroxyapatite Characterized by Improved Calcium Deposition*, Polymers, Vol. 12, iss. 2 (2020), pp. 1-18, doi: 10.3390/polym12020410 (czasopismo z listy MEiN, 100 pkt., Q1, IF (2020) = 4,967)

5) J. Kucińska-Lipka, A. Lewandowska, P.Szarlej, M. Łapiński, I. Carayon: Degradable poly(ester-ether) urethanes of improved surface calcium deposition developed as novel biomaterials, Journal of Bioactive and Compatible Polymers, Vol. 34, Issue 4-5, (2019), pp. 1-11, doi: 10.1177/0883911519854114 (czasopismo z listy MEiN, 40 pkt., Q3, IF (2019) = 2,137)





6) K. Gwizdała, P. Szarlej, P. Gnatowski, E. Piłat, M. Sienkiewicz, J. Kucińska – Lipka: Determination of liquid detergent pods as a potential microplastic source// Chemistry & Chemical Technology (2022) (czasopismo z listy MEiN, 40 pkt., Q2, IF (2022) = 0,9)

7) M. Razimowicz, P. Gnatowski, **P. Szarlej**, E. Piłat, M. Sienkiewicz, J. Kucińska – Lipka, *Developing materials for biodegradable otolaryngological stents*, Chemistry & Chemical Technology (2022) (czasopismo z listy MEiN, 40 pkt., Q2, IF (2022) = 0,9)

8) Z. Cemka, **P. Szarlej**, E. Piłat, P. Gnatowski, M. Sienkiewicz, J. Kucińska-Lipka, *Hydrogels Based on Natural Polymers for Cardiac Applications*, Chemistry & Chemical Technology, (2022). *16*, 564-572. https://doi.org/10.23939/chcht16.04.564 (czasopismo z listy MEiN, 40 pkt., IF (2022) = 0,9)

9) M. Borowska, M. Glinka, N. Filipowicz, A.Terebeniec, P. Szarlej, A. Kot-Wasik, Justyna Kucińska-Lipka, *Polymer biodegradable coatings as active substance release systems for urological applications*, Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly, Vol. 150, Issue 9, 2019, pp. 1697-1702. (czasopismo z listy MEiN, 40 pkt., Q3, IF (2019) = 1,613)

10) **P. Szarlej**, J. Kucińska-Lipka, I. Gubańska, H. Janik: *Modifiers for Medical Grade Polymeric Systems used in FDM 3D Printing - Short Review*; Biomedical Journal of Scientific & Technical Research, Volume 15, Issue 15; (2019), doi: 10.26717/BJSTR.2019.15.002778, IF (2019) - 0,548; ISSN: 2574 – 1241 (czasopismo spoza listy MEiN, 0 pkt., Q4, IF (2019) = 0,548)

11) J. Kucińska-Lipka, H. Janik, A. Haryńska, P. Szarlej, *The influence of PEG on Morphology of Polyurethane Tissue Scaffold*. In Science and Technology of Polymers and Advanced Materials Applied Research Methods; Mukbaniani, O.; Tatrishvili, T.; Abadie, M.; Eds.; Taylor&Francis: New York 2019 (Rozdział w monografii lub recenzowanej pracy zbiorowej w języku obcym)





12) J. Haponiuk, J. Kucińska-Lipka, **P. Szarlej**, P. Gnatowski: *Novel Research on Biomedical Polyurethanes*; 2021 (publikacja w wydawnictwie zbiorowym recenzowanym (także w materiałach konferencyjnych))

### Konferencje naukowe:

Wystąpienie online na konferencji: International Online Conference on Macromolecules  $13^{th} - 15^{th}$  November 2020. Tytuł wystąpienia: Antibacterial hydrogel dressings with potential application in wound healing

### **Projekty naukowe:**

Projekt NCBiR z firmą Medarch Sp. z o.o. pt. "Implantowalny metodą przezcewnikową system wspomagający pracę lewej komory serca u pacjentów ze schyłkową niewydolnością układu krążenia"– finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, w ramach Poddziałania 1.1.1: "Badania przemysłowe i prace rozwojowe realizowane przez przedsiębiorstwa" Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 (udział w latach 2019 – 2023)

Projekt z GUMED pt. "Nowe polimerowe systemy uwalniania substancji aktywnych otrzymywane metodą druku 3D do zastosowania jako opatrunki wspomagające gojenie zakażonych ran." (Inkubator innowacyjności 4.0, udział: 2021 – 2022)