



Antybakteryjny opatrunek na rany wzbogacony w zeolit impregnowany srebrem oraz sposób jego wytwarzania

Przedmiotem wynalazku jest antybakteryjny opatrunek na bazie naturalnych polisacharydów (agarozy oraz kurdlanu) wzbogacony w zeolit impregnowany srebrem do zastosowań w medycynie regeneracyjnej oraz sposób jego wytwarzania. Otrzymany według wynalazku materiał opatrunkowy może znaleźć zastosowanie w leczeniu zakażonych ran przewlekłych.

Rany przewlekłe, takie jak owrzodzenia żyłne lub owrzodzenia w zespole stopy cukrzycowej, powstają w wyniku przedłużającej się fazy zapalnej podczas procesu gojenia, co uniemożliwia prawidłowy przebieg regeneracji skóry. Leczenie ran przewlekłych wciąż jest dużym wyzwaniem i obciążeniem zarówno dla pacjentów, jak i dla zespołów terapeutycznych, ponieważ często są to rany skolonizowane przez drobnoustroje. W tym przypadku istotny jest dobór środków antyseptycznych, mających wpływ na ograniczenie rozwoju zakażenia w ranie. W ranach przewlekłych często unika się stosowania antybiotyków, które mogą w prosty sposób prowadzić do antybiotykooporności i znacznie przedłużyć proces gojenia się rany. Na przestrzeni ostatnich lat zaobserwowano rosnące zainteresowanie biomateriałami zawierającymi jony metali (np. srebro, złoto, cynk, miedź), które wykazują swoją aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz mogą być wykorzystywane jako materiały opatrunkowe wspomagające proces gojenia i ograniczające infekcje (Przekora, 2020; Dhivya, 2015).

Jony srebra charakteryzują się szerokim spektrum przeciwdrobnoustrojowym. Ich przeciwdrobnoustrojowe działanie opiera się na wiązaniu z DNA, RNA i różnymi białkami, prowadząc do śmierci komórki. Co ważne, gwałtowny rozpad drobnoustrojów uniemożliwia powstanie oporności na jony srebra (Khansa, 2019; Shameli, 2011). Z kolei istotną kwestią jest skuteczne i bezpieczne dostarczenie jonów srebra w leczeniu zakażonych ran, np. poprzez zastosowanie odpowiednich nośników jonów. Ze względu na dodatni ładunek, jony srebra bardzo łatwo adsorbują na powierzchni ujemnie naładowanych zeolitów (nanoporowate struktury glinokrzemianowe) (Neidrauer, 2014). Natomiast zeolity charakteryzują się wysoką wydajnością obciążenia i przedłużonym uwalnianiem dopowanych jonów, co jest ważne w przypadku materiałów opatrunkowych, ponieważ zapewnia to stałą ochronę przed tworzeniem biofilmu bakteryjnego oraz zapobiega wystąpieniu początkowego wyrzutu jonów o stężeniu cytotoksycznym (Bacakova, 2018).

Przedmiotem wynalazku jest antybakteryjny materiał opatrunkowy na bazie naturalnych polisacharydów (agarozy oraz kurdlanu) wzbogacony w zeolit impregnowany srebrem, który ze względu na swój skład oraz wynikające z niego unikatowe właściwości fizykochemiczne oraz biologiczne będzie wspierał proces gojenia ograniczając jednocześnie rozwój chorobotwórczych mikroorganizmów w łożysku rany oraz jej bliskim sąsiedztwie.

Z opisu patentu [CN103520767A](#) znany jest sposób wytwarzania antybakteryjnego opatrunku hydrożelowego przyspieszającego gojenie. Głównymi składnikami opatrunku są rozpuszczalne w wodzie polimery wielkocząsteczkowe, polimery pseudoplastyczne (np. agarozą), środki antybakteryjne (np. jony srebra i/lub nanosrebro) oraz woda. Polimery rozpuszcza się w wodzie i ogrzewa pod chłodnicą zwrotną w łaźni wodnej o temperaturze powyżej 90°C do uzyskania

jednorodnego roztworu, następnie dodaje rozpuszczony w wodzie środek antybakteryjny i miesza do uzyskania jednorodnego roztworu uzupełniając wodą, odpienia, mieszaninę wylewa się do formy i schładza, następnie pseudoplastyczne ciało stałe poddawane jest napromieniowaniu γ 60Co przez 10-40 min, o dawce 10K-70K.

5 Z opisu patentu [CN106346018A](#) znany jest sposób wytwarzania żelu kompozytowego agarozu/nanosrebro z przeznaczeniem jako środek przeciwbakteryjny. Sposób produkcji polega na połączeniu agarozy oraz soli srebrowej zdyspergowanych w rozpuszczalnikach w temperaturze 80-100°C przez 1-150 min, następnie obniżeniu temperatury do 4-40°C i mieszaniu przez 1-20 dni.

10 Z opisu patentu [CN104001205A](#) znany jest sposób wytwarzania opatrunku płynnego. Sposób produkcji polega na rozpuszczeniu w wodzie agarozy i/lub agaru poprzez podgrzanie do 90°C i dodanie rozpuszczonego w wodzie składnika funkcjonalnego np. przeciwbakteryjnego nanosrebra, mieszanie, stopniowe schładzanie powstałej mikrosfery lub mikrożelu do temperatury 50-30°C i obniżeniu prędkości obrotów z 600 do 300 obr/min i kontynuacji mieszania przez 30 min.

15 Z opisu patentu [CN104857551A](#) znany jest sposób wytwarzania opatrunku antybakteryjnego zawierającego srebro. Sposób wytwarzania polega na wkraplaniu do 0,1 – 0,6% roztworu polisacharydów roztworu soli zawierającej jony chloru, wprowadzeniu wodnego roztworu azotanu srebra (w zakresie stężeń: 0,05-1%) do przygotowanej mieszaniny, naświetlaniu światłem o długości fali mniejszej niż 500 nm (1 min – 30 godz., 300 – 20 000 lx), zmieszaniu otrzymanej mieszaniny z 0.2-0,8% w/v roztworem naturalnego polimeru, zamrożeniu (-20 – -80°C) i liofilizacji.

20 Z opisu patentu [CN113694250A](#) znany jest sposób wytwarzania antybakteryjnego hydrożelu wypełnionego nanocząstkami srebra. Sposób wytwarzania polega na mieszaniu i ogrzaniu do 100°C roztworu kurdlanu i sulfotlenku dimetylu, dodaniu roztworu azotanu srebra, schłodzeniu do temperatury pokojowej i dodawaniu roztworu borowodorku sodowego, mieszaniu, powolnym schłodzeniu oraz płukaniu w wodzie destylowanej.

25 Z opisu patentu [US2012071807A1](#) znany jest antybakteryjny opatrunek warstwowy zawierający siateczkowatą silikonową warstwę kontaktową, środkową warstwę włóknistą, która obejmuje włókna pokryte zeolitami impregnowanymi jonami srebra lub jonami srebra i miedzi lub jonami srebra i cynku lub jonami srebra i sodu (pierwszy środek przeciwdrobnoustrojowy) oraz nieprzepuszczalną dla wilgoci warstwę wierzchnią, przy czym wspomniana warstwa wierzchnia obejmuje drugi środek przeciwdrobnoustrojowy (fosforan magnezu i srebra) do przenikania przez warstwę środkową i warstwę kontaktową w celu uzupełnienia pierwszego środka przeciwdrobnoustrojowego w kontakcie z raną.

30 Z opisu patentu [US2012089068A1](#) znany jest antybakteryjny opatrunek warstwowy zawierający siateczkowatą silikonową warstwę kontaktową, hydrofilową piankową warstwę środkową, która obejmuje włókna poliuretanowe pokryte zeolitami impregnowanymi jonami srebra oraz jonami miedzi, cynku lub sodu oraz nieprzepuszczalną dla wilgoci warstwę wierzchnią.

40 Z opisu patentu [CN111118878A](#) znany jest sposób wytwarzania opatrunku na rany na bazie alginianu zawierającego jony srebra. Sposób wytwarzania polega na tym, że włókna alginianowe pokrywane są środkiem antybakteryjnym na bazie srebra poprzez rozpylenie ultradźwiękowe. Środek antybakteryjny zawierający srebro to zeolit zawierający srebro i/lub fosforan cyrkonu wzbogacony srebrem.

Z artykułu naukowego Hissae Yassue-Cordeiro i wsp. (2019) znany jest sposób wytwarzania antybakteryjnego chitozanowego filmu zawierającego zeolit impregnowany sulfadiazyną srebra. Sposób wytwarzania polega na połączeniu roztworu chitozanu przygotowanego w kwasie octowym z zeolitem impregnowanym sulfadiazyną srebra, wymieszaniu, a kolejno na wysuszeniu w temperaturze 37 °C przez 24 h. [10.3390/pharmaceutics11100535](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11100535)

Z artykułu naukowego Permyakova i wsp. (2022) znany jest sposób wytwarzania pianki kurdlanowo-chitozanowej zawierającej nanocząstki srebra z przeznaczeniem do przyśpieszenia gojenia rany cukrzycowej. Sposób wytwarzania polega na ogrzaniu i ciągłym mieszaniu 2% wodnego kurdlanu i 1% roztworu chitozanu w kwasie octowym do temperatury 55°C, wkropleniu 0,01 M roztworu azotanu srebra i ogrzewaniu mieszaniny do 90°C przez 20 min, następnie naświetlaniu roztworu światłem UV (długość fali $\lambda = 185$ nm), schłodzeniu, zamrożeniu do -196°C i 24-godzinnej liofilizacji. [10.3390/pharmaceutics14040724](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040724)

Z artykułu Basha i wsp. (2018) znany jest sposób otrzymywania materiału opatrunkowego na bazie kurdlanu i alkoholu poliwinylowego z dodatkiem azotanu srebra do zastosowań w leczeniu ran cukrzycowych. Sposób produkcji opiera się na stworzeniu mieszaniny kurdlanu zawieszzonego w kwasie mrówkowym z alkoholem poliwinylowym PVA rozpuszczonym w wodzie oraz azotanem srebra i poddanie powstałego roztworu elektroprądowi. Po czym materiał zostaje poddany suszeniu w warunkach próżni i sieciowaniu za pomocą par aldehydu glutarowego z kwasem solnym. <https://doi.org/10.1002/mame.201800234>

Z artykułu Lin i wsp. (2021) znany jest sposób otrzymywania nanowłóknistego hydrożelu do leczenia ran. Sposób produkcji opiera się na rozpuszczeniu kurdlanu i nanocząstek srebrowych w DMSO i termicznym żelowaniu w temperaturze 100 °C, a następnie płukaniu w wodzie destylowanej. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c06603>

Z artykułu Cai i wsp. (2019) znany jest sposób otrzymywania nanokompozytowego filmu antybakteryjnego na bazie kurdlanu wzbogaconego o nanocząstki srebra o potencjalnym zastosowaniu jako materiał do gojenia się ran. Sposób produkcji bazuje na połączeniu kurdlanu z koloidem nanocząstek srebrowych w środowisku wodnym, termicznym żelowaniu w temperaturze 60°C a następnie suszeniu w takiej samej temperaturze. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.018>

Z artykułu Hanim i wsp. (2017) znany jest sposób wytwarzania antybakteryjnego zeolitu NaY zawierającego jony srebra i zmodyfikowanego aminami. Sposób wytwarzania polega na przeprowadzeniu wymiany jonowej w zeolicie NaY przy użyciu jonów srebra (Ag⁺) w ilości 50% pojemności jonowymiennej, a następnie funkcjonalizacji powierzchni otrzymanego materiału za pomocą 0,2 M roztworu 3-aminopropylotrietoksyilanu (APTES). Tak otrzymany materiał wykazuje lepszą aktywność antybakteryjną wobec szczepu *Escherichia coli*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vacuum.2017.06.038>

Z artykułu naukowego Shameli i wsp. (2011) znany jest sposób wytwarzania nanocząstek srebra osadzonych w matrycy zeolitowej o działaniu przeciwbakteryjnym. Sposób wytwarzania polega na zawieszeniu stałej ilości zeolitu w różnych objętościach roztworu AgNO₃ i wymiany kationowej. Następnie do zawiesiny dodaje się świeżo przygotowany roztwór reduktora NaBH₄. Otrzymane zawiesiny Ag/zeolit odwirowuje się, przemywa czterokrotnie wodą destylowaną. Otrzymane nanocząstki

srebra osadzone w zeolicie wykazują silne działanie przeciwbakteryjne wobec bakterii Gram-ujemnych (*E. coli* i *S. dysenteriae*) oraz Gram-dodatnich (*S. aureus* i MRSA). <https://doi.org/10.2147/IJN.S16964>

Jak dotąd nie opracowano materiału opatrunkowego wzbogaconego w zeolit impregnowany srebrem, bazującego na termicznie żelowanej matrycy złożonej z agarozy i kurdlanu.

5

Problemem technicznym do rozwiązania jest stworzenie antybakteryjnego materiału opatrunkowego.

10 Przedmiotem wynalazku jest antybakteryjny materiał opatrunkowy na bazie naturalnych polisacharydów (agarozy oraz kurdlanu) wzbogacony w zeolit impregnowany srebrem do zastosowań w medycynie regeneracyjnej oraz sposób jego wytwarzania.

15 Istotą antybakteryjnego opatrunku według wynalazku jest to, że stanowi go agarozą, kurdlan, zeolit o typie struktury Na-X impregnowany jonami srebra w postaci proszku lub nanoproszku, otrzymany w ten sposób, że sproszkowany zeolit Na-X poddaje się impregnacji jonami srebra dodając w proporcji 1 część proszku do 20 części (w/v) wodnego roztworu azotanu srebra o stężeniu 0,01M mieszając przez 24 godziny, po czym otrzymany zeolit zaimpregnowany jonami srebra suszy się i rozdrabnia.

20 Istotą sposobu wytwarzania antybakteryjnego opatrunku według wynalazku jest to, że przygotowuje się zawiesinę 2% (w/v) agarozy, 2% (w/v) kurdlanu oraz 0,25% (w/v) zeolitu Na-X impregnowanego jonami srebra, w wodzie destylowanej lub dejonizowanej, a następnie mieszaninę przekłada się do formy, którą inkubuje się w łaźni wodnej w temperaturze 90-95°C, korzystnie 95°C, przez czas 15-30 minut, korzystnie 20 minut. Następnie studzi w temperaturze 4°C, ostudzoną próbkę umieszcza się w zamrażarce w temperaturze -80°C, na czas 24 godzin. W dalszej kolejności zamrożony materiał poddaje się procesowi liofilizacji pod ciśnieniem 10^{-2} - 10^{-3} mbar, przez czas 16 godzin lub do momentu całkowitego wysuszenia próbki.

30 Korzystnym skutkiem wynalazku jest to, że inkorporacja zeolitu impregnowanego jonami srebra w strukturę matrycy polisacharydowej opatrunku gwarantuje powolny profil uwalniania srebra do łożyska rany zapewniając jednocześnie przeciwbakteryjną aktywność oraz brak cytotoksyczności względem komórek skóry.

Przedmiot wynalazku został przedstawiony w przykładach dla których wartości różniące przedstawiono w tabeli.

35 Do 0,04 g agarozy oraz 0,04 g kurdlanu dodano 2 ml wody dejonizowanej i mieszano. Do uzyskanej zawiesiny dodano 0,005 g zeolitu Na-X impregnowanego jonami srebra w postaci proszku, otrzymanego w ten sposób, że w szklanej zlewce o objętości 200 ml umieszczono 5 g sproszkowanego poprzez utarcie w moździerzu agatowym przez 2 minuty zeolitu Na-X oraz 100 ml roztworu azotanu srebra o stężeniu 0,01 M. Tak przygotowaną zawiesinę mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przy 500 rpm przez 24 godziny w temperaturze 25°C. Po upływie czasu 40 rozdzielono zawiesinę poprzez odwirowanie w wirówce laboratoryjnej przez 5 minut przy 10 000 rpm,

a otrzymany osad wysuszono w temperaturze 100°C w suszarce laboratoryjnej przez 24 h. Następnie osad ucierano w moździerz agatowym przez 2 minuty. Otrzymany proszek Na-X zaimpregnowany jonami srebra poddano kalcynacji w 350°C przez 4 godziny w piecu muflowym. Całość mieszano do uzyskania jednolitej zawiesiny. Następnie otrzymaną mieszaninę umieszczono w płaskiej formie (o powierzchni 4 cm² i grubości 3 mm) odpornej na działanie wysokiej i ultra-niskiej temperatury. Formę inkubowano w kąpeli wodnej w temperaturze T przez czas t, a następnie schładzano w temperaturze 4°C. Ostudzony biomateriał umieszczono w zamrażarce w temperaturze -80°C na 24 godziny. Zamrożoną próbkę poddano suszeniu sublimacyjnemu pod ciśnieniem p, przez czas 16 godzin.

10 Tabela. Parametry obróbki w przykładach wykonania

Parametr		Przykład 1	Przykład 2	Przykład 3
Temperatura inkubacji T	°C	95	95	90
Czas inkubacji t	min	15	20	30
Ciśnienie liofilizacji p	mbar	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻²

Otrzymane materiały opatrunkowe charakteryzują się makroporowatą oraz superchłonną mikrostrukturą. Ocena cytotoksyczności w stosunku do ludzkich fibroblastów linii komórkowej BJ zgodnie z normami ISO dla wyrobów medycznych (ISO 1099-5:2009 oraz ISO 10993-12:2012) wykazała, że otrzymany opatrunek jest nietoksyczny (żywołność komórek ekspozowanych przez czas 24 godzin na ekstrakt z opatrunku wynosiła 98% w porównaniu do negatywnej kontroli cytotoksyczności). Powierzchnia kontaktowa opatrunku nie sprzyja przyczepianiu (adhezji) komórek, ograniczając tym samym ryzyko uszkodzenia skóry i łożyska rany podczas zmiany opatrunku i minimalizując ból pacjenta. Materiał opatrunkowy wykazuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe, dodatkowo jest w stanie wychwycić mikroorganizmy ze środowiska rany doprowadzając do ich unieszkodliwienia.

W przykładach przedstawiono jedyne możliwe zastosowanie proporcji poszczególnych składników wynalazku, które skutkuje optymalnymi właściwościami biologicznymi opatrunku, zapewniając jednocześnie przeciwbakteryjną aktywność oraz brak cytotoksyczności względem komórek skóry.

RZECZNIK PATENTOWY
Maciej Nowicki
 mgr inż. Maciej Nowicki
 Nr wp. 3476