



Silesian University of Technology

Sara Sarraj, MSc Eng.

*Modification of Selected Bioactive and Mechanical
Properties of Polydimethylsiloxane for External
Medical Applications*

Extended Polish Abstract

Supervisor:

Małgorzata Szymiczek, PhD, DSc Eng.

Gliwice 2024

Postęp w inżynierii materiałowej, szczególnie w materiałach polimerowych, oraz coraz wyższe wymagania stawiane przez przemysł medyczny, determinuje poszukiwanie nowych alternatywnych rozwiązań, często opartych na biomateriałach i/lub bionapełniaczach. Dobór materiałów polimerowych, a także stosowanych metod modyfikacji, w tym wprowadzania napełniaczy, jest uwarunkowany obszarem aplikacji i związanymi z nim wymogami. Tego typu materiały muszą wykazywać biokompatybilność, a często również inne własności wynikające obszaru stosowania np. antybakteryjne, antygrzybiczne, antyalergiczne itd.

Znane są różne rozwiązania wykorzystujące napełniacze nieorganiczne i organiczne często wykorzystujące mechanizmy synergicznego oddziaływania, wpływające jednocześnie na własności biologiczne i fizykochemiczne wymagane przez potencjalną aplikację. Przeprowadzona analiza literaturowa jednoznacznie wskazuje, że możliwa jest modyfikacja materiałów polimerowych napełniaczami organicznymi w aplikacjach medycznych. Materiały polimerowe są stosowane w wielu obszarach m.in. jako elementy sprzętu medycznego, implanty, środki higieny, opatrunki, co determinuje ich charakterystyki eksploatacyjne. Pomimo szeregu różnych rozwiązań, pojawia się uzasadniona potrzeba opracowania nowych materiałów, które mogłyby stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych opatrunków szczególnie w aspekcie długotrwałego stosowania na rany przy zachowaniu wymaganej antybakteryjności, co ma istotny wpływ na proces gojenia. Odpowiedzią na tak zdefiniowane potrzeby, mogą być biokompozyty na bazie materiałów elastomerowych modyfikowane pod kątem własności antybakteryjnych.

Jednymi z najczęściej stosowanych materiałów elastomerowych są silikony, w tym polidimetylosiloksan (PDMS). Jego biokompatybilność, wysoka przepuszczalność gazów, chemiczna obojętność oraz stabilność termiczna sprawiają, że PDMS jest niezwykle pożądanym w aplikacjach wymagających zarówno elastyczności, jak i trwałości. W sektorze medycznym PDMS jest wykorzystywany m.in. w plastrach oraz opatrunkach na rany, które służą do zabezpieczenia ran przed zakażeniem i ułatwiają proces gojenia. Znane są różne rodzaje opatrunków modyfikowanych dodatkami nieorganicznymi jednak wiąże się z koniecznością przeprowadzenia czasochłonnych procesów produkcyjnych, zwiększonymi kosztami oraz potrzebą użycia różnorodnych substancji chemicznych. Odpowiedzią na powyższe wyzwania mogą być materiały

modyfikowane szeroko dostępnymi dodatkami organicznymi. Proces ich przygotowania charakteryzuje się mniejszym nakładem czasowym i finansowym oraz ograniczonym stosowaniem substancji chemicznych.

Materiały pochodzenia roślinnego, w tym zioła, mają swoją historię w medycynie tradycyjnej w leczeniu licznych chorób dzięki zawartości polifenoli i terpenoidów, które wykazują właściwości antybakteryjne, przeciwzapalne, antyoksydacyjne i przeciwalergiczne. Wiele dodatków pochodzenia ziołowego jest obecnie wprowadzanych do matryc polimerowych, a badania wykazały ich korzystny wpływ na wybrane właściwości biologiczne, szczególnie w zastosowaniach opatrunkowych.

Na podstawie przeglądu literatury stwierdzono, że:

- Polidimetylosiloksan (PDMS) jest powszechnie stosowany w medycynie ze względu na biokompatybilność, wysoką przepuszczalność gazów, elastyczność i niską reaktywność, ale brak mu właściwości antybakteryjnych.
- W obliczu rosnącej oporności bakterii poszukiwane są alternatywne rozwiązania. Celem zwiększenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej opatrunków wprowadzane są napełniacze nieorganiczne. Jednakże produkcja takich dodatków wiąże się z wysokimi nakładami finansowymi i jest czasochłonna.
- Naturalne związki roślinne wykazują właściwości bioaktywne, niemniej jednak ich wprowadzenie do matrycy polimerowej jest ograniczone ze względu na wrażliwość temperaturową lub wpływ na proces polimeryzacji.

W związku z powyższym istnieje uzasadniona potrzeba poszukiwania nowych materiałów na bazie PDMS charakteryzujących się właściwościami antybakteryjnymi.

Na podstawie wstępnych badań oraz obszernego przeglądu literatury opracowano tezę niniejszej pracy. **Wprowadzenie specjalnie przygotowanych organicznych napełniaczy, pochodzących z wybranych części bioaktywnych ziół, do polidimetylosiloksanu znacząco zwiększa jego aktywność antybakteryjną, przy jednoczesnym zachowaniu niezbędnych własności funkcjonalnych do zewnętrznych zastosowań medycznych, takich jak opatrunki, tj. własności mechanicznych i fizykochemicznych, zapewniając jednocześnie długoterminową funkcjonalność i niezawodność w kontekście medycznym.**

Celem poprawy własności bioaktywnych PDMS wprowadzono napełniacze roślinne wyselekcjonowane na podstawie przyjętych kryteriów tj. zawartości związków polifenolowych, dostępności, aktywności przeciwdrobnoustrojowa, a także korzyści zdrowotnych. Napełniaczami były suszony tymianek, szalwia i rozmaryn, które wprowadzono w postaci wyjściowej, modyfikowanej oraz ekstraktów. Wstępne eksperymenty wykazały, że wysoka zawartość surowych tłuszczów i terpenów w ziołach utrudniała proces sieciowania biokompozytów lub zmniejszała własności funkcjonalne materiałów. W związku z tym wymagane było odpowiednie przygotowanie napełniaczy przez rozdrobnienie (wszystkie zioła), wstępną ekstrakcję alkoholem etylowym frakcji rozpuszczalnych (szalwia i rozmaryn) oraz dodatkowo, w przypadku rozmarynu, oddziaływaniu pary. Zastosowane modyfikacje pozwoliły na ograniczenie związków tłuszczowych, które zakłócały proces sieciowania PDMS, co wpłynęło tym samym na zwiększenie sztywności otrzymanych biokompozytów. Ostatnią grupę stanowiły ekstrakty polifenolowe z testowanych ziół.

Wszystkie napełniacze zostały scharakteryzowane pod względem morfologii, gęstości, całkowitej zawartości polifenoli oraz składu fitochemicznego w celu określenia ich wpływu na badane własności. Biokompozyty na osnowie z PDMS o masowej zawartości poszczególnych ziół: 2,5; 5; 7,5 i 10%, wytworzono metodą odlewania grawitacyjnego. Dla niemodyfikowanego tymianku i szalwii przygotowano tylko dwa materiały o zawartości masowej 5% i 10%. Ze względu na znaczny wpływ kwasów tłuszczowych i terpenoidów w rozmarynie, wytworzenie biokompozytów z surowego, niemodyfikowanego rozmarynu było niemożliwe.

Celem oceny wpływu napełniaczy, różniących się strukturą i składem fitochemicznym, na własności fizykochemiczne, mechaniczne oraz biologiczne, wytworzone biokompozyty poddano badaniom gęstości, kąta zwilżania, chłonności, stopnia krystaliczności, odbojności, twardości, odporności na ścieranie, określenia własności wytrzymałościowych w statycznej próbie rozciągania, a także aktywności antybakteryjnej i żywotności komórek. W końcowym etapie przeprowadzono badania starzeniowe w środowisku sztucznego osocza, co odpowiadało warunkom potencjalnej, zakładanej aplikacji. Na podstawie analizy widm FTIR określono wpływ modyfikacji i starzenia na zmiany strukturalne materiału.

Wyniki wskazują, że wprowadzenie wybranych dodatków do polidimetylosiloksanu znacząco wpłynęło na własności mechaniczne uzyskanych materiałów. Biokompozyty zawierające niemodyfikowane zioła wykazały wyraźne obniżenie zarówno naprężenia przy zerwaniu, jak i odkształcenia przy zerwaniu. Redukcja ta była głównie przypisywana obecności dużych cząstek w niemodyfikowanych ziołach, które miały tendencję do odrywania się pod wpływem naprężenia rozciągającego, tworząc puste przestrzenie działające jak karby, co w konsekwencji zmniejszało wytrzymałość na rozciąganie.

Zastosowana modyfikacja ziół pozwoliła na znaczną poprawę własności wytrzymałościowych badanych materiałów, co było wynikiem redukcji zawartości terpenów i kwasów tłuszczowych oraz eliminacji większych cząstek. Jednakże własności mechaniczne materiałów na bazie szałwii i rozmarynu były nadal gorsze w porównaniu do kompozytów opartych na tymianku. Analiza mikroskopowa powierzchni przełomu wykazała, że różnica ta była w dużej mierze spowodowana obecnością aglomeratów w biokompozytach z szałwii i rozmarynu. Z drugiej strony, materiały oparte na ekstraktach ziołowych wykazały niższe własności mechaniczne w porównaniu do tych zawierających zioła niemodyfikowane lub modyfikowane. Wyniki te sugerują, że zarówno związki tłuszczowe, jak i polifenolowe odgrywają istotną rolę w kształtowaniu własności materiału.

Pomimo iż, wartości naprężenia przy zerwaniu były niższe dla uzyskanych biokompozytów, odkształcenie przy zerwaniu dla kilku z tych materiałów, zwłaszcza kompozytów modyfikowanych na bazie tymianku, przewyższało wartości uzyskane dla polidimetylosiloksanu. Zwiększone odkształcenie przy zerwaniu jest pożądaną cechą dla proponowanego potencjalnego zastosowania wymagającego elastyczności, która jest nierozdzielnie związana z komfortem użytkowania przez pacjenta. Największą zmianą w wartościach wytrzymałościowych zaobserwowano dla biokompozytów zawierających niemodyfikowane zioła. W przypadku wprowadzenia do materiału osnowy modyfikowanego napełniacza różnice w odniesieniu do materiału referencyjnego były mniejsze (do 23% spadku wartości). PDMS napełniony ekstraktami wykazywał porównywalne wyniki. Podobne tendencje zaobserwowano w pomiarach twardości, choć stopień zmian nie przekraczał 10%. Warto zauważyć, że na rozrzut wyników wpływa metodyka pomiaru (z dwóch stron) oraz twardość samych napełniaczy. Dodatkowo,

zaobserwowano, że wyższa zawartość napełniacza ogólnie prowadziła do mniejszej zmienności w mierzonych własnościach. Wynika to z wyższej koncentracji ziół, będącej efektem sedimentacji na dolnej powierzchni materiału, co skutkowało bardziej jednolitym rozkładem.

Wiele czynników, w tym metody stosowane do przygotowania napełniaczy i ich wprowadzenia do matrycy, a także sedimentacja, aglomeracja i odrywanie się cząstek, prawdopodobnie przyczyniły się do obserwowanego rozrzutu uzyskanych wyników. Otrzymane wyniki zostały potwierdzone spektroskopową analizą widm FTIR, która wykazała spadek intensywności pików związanych z wytrzymałością mechaniczną materiału.

Ponadto wykazano, że dodanie ziół nie zmieniło hydrofobowego charakteru polidimetylosiloksanu. Materiał pozostał hydrofobowy niezależnie od rodzaju czy zawartości napełniacza, a wyniki pomiaru kąta zwilżania dla biokompozytów były zgodne z zakresem wartości obserwowanych w materiale referencyjnym. Minimalne zmiany obserwowane między poszczególnymi grupami materiałów można przypisać obecności związków polifenolowych, znanych z wysokiej rozpuszczalności w wodzie i hydrofilowości. Badania aktywności antybakteryjnej potwierdziły hamowanie i ograniczanie wzrostu gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*), głównego czynnika powodującego infekcje ran. Wszystkie badane materiały, z wyjątkiem materiału referencyjnego, wykazały właściwości bakteriostatyczne lub niemal bakteriobójcze wobec *S. aureus*. Okazało się jednak, że modyfikacje napełniaczy obniżały aktywność antybakteryjną. Logarytm redukcji dla materiałów z niemodyfikowanymi dodatkami wynosił 4,4, podczas gdy dla tych z modyfikowanymi ziołami obniżył się do ok. 2,5 przy tych samych zawartościach napełniacza. Wyniki te podkreślają znaczenie związków terpenowych i kwasów tłuszczowych w ograniczaniu tworzenia się biofilmu.

Na podstawie przeprowadzonych badań i analiz, do dalszych eksperymentów wyselekcjonowano PDMS napełniony modyfikowanymi ziołami, co było uwarunkowane planowanym zastosowaniem w opatrunkach na rany. Dalszym badaniom poddano również materiał referencyjny, niemodyfikowany PDMS.

Wyniki badań *in vitro* dotyczących absorpcji sztucznego osocza wyraźnie wskazują na higroskopijny charakter napełniaczy oraz wpływ morfologii liści, z których

pozyskano napełniacze. Wśród biokompozytów, rozmaryn, ze względu na swoje bardziej woskowate liście, wykazywał ograniczoną retencję wody, podczas gdy szalwia i tymianek, charakteryzujące się gęstą siecią włosków na liściach, wykazały zwiększoną retencję wilgoci. Należy zauważyć, że metoda przygotowania próbek, która polegała na cięciu i oddziaływaniu napełniaczy na środowisko sztucznego osocza, przyczyniła się do znacznej zmienności wyników, przy czym rozrzut zwiększał się wraz z wydłużaniem okresu inkubacji. Niemniej jednak biokompozyty z najniższą zawartością napełniacza (2,5% wag.) wykazały stabilizację absorpcji po 72 godzinach. Obecność wody z roztworu inkubacyjnego została dodatkowo potwierdzona analizą spektralną widm FTIR, w której odnotowano szeroki pik odpowiadający grupie hydroksylowej. W kontekście zastosowań opatrunkowych, absorpcja jest istotną własnością, ponieważ zapewnia skuteczne zarządzanie nadmiarem wysięku.

Kolejną grupą własności, istotną w aspekcie potencjalnej aplikacji dla zapewnienia komfortu pacjenta przy stosowaniu opatrunków, są odbojność i odporność na ścieranie. W odniesieniu do odbojności, wszystkie biokompozyty na bazie tymianku, z wyjątkiem tych o najwyższej koncentracji napełniacza, wykazały wyższe wartości niż próbki referencyjne. Pozostałe materiały wykazały z kolei zmniejszoną odbojność w stosunku do niemodyfikowanego PDMS. Wyniki te w dużej mierze są uzależnione od cech napełniaczy, np. większa sztywność cząstek rozmarynu zwiększa ogólną sztywność materiału, co zmniejsza jego zdolność do powrotu do pierwotnego kształtu. Dodatkowo, mały rozmiar cząstek tymianku i szalwii przyczynia się do zwiększenia odbojności. Jednak w przypadku szalwii i rozmarynu, tworzenie aglomeratów zakłócało równomierne rozprowadzanie energii uderzenia, prowadząc do zmniejszenia elastyczności materiału przy wyższych stężeniach napełniacza. Należy zauważyć, że test został przeprowadzony od strony cienkiej warstwy czystego PDMS. Wybór ten opierał się na fakcie, że strona z wyższą koncentracją napełniaczy była przeznaczona do kontaktu z raną, a przeciwna byłaby narażona na czynniki zewnętrzne, takie jak odzież. Z drugiej strony, wszystkie biokompozyty wykazały zmniejszoną odporność na ścieranie wraz ze wzrostem stopnia napełnienia. Podobnie jak w przypadku odbojności, tworzenie się aglomeratów wpływało na odporność na ścieranie, podobnie jak obecność związków tłuszczowych, gdzie większa koncentracja prowadziła do większej utraty objętości. Co więcej, wyniki są uzależnione od stopnia krystaliczności, gdzie niższe wartości wskazują na bardziej amorficzną strukturę oraz mniejszą sztywność materiału. Wyniki te są

również skorelowane z pomiarami twardości, ponieważ zmniejszona odporność na odkształcenia sprawia, że materiał jest bardziej podatny na zużycie w kontakcie z sztywną powierzchnią. Ważne jest, że warunki pomiarów były znacznie bardziej wymagające niż typowe warunki użytkowania. Zmiany obserwowane w przebiegu widm spektralnych opracowanych biokompozytów potwierdzają wpływ napelniaczy na badane własności mechaniczne.

Celem oceny zachowania się opracowanych materiałów w symulowanych warunkach użytkowania, przeprowadzono przyspieszone badania degradacji w środowisku sztucznego osocza. Uzyskane zmiany oceniono za pomocą testów wytrzymałościowych i analizy spektralnej widm FTIR. Materiał referencyjny początkowo wykazał spadek naprężenia przy zerwaniu, które następnie wzrosło po 7 dniach inkubacji, wskazując na zwiększone usieciowanie, co potwierdzono wyższymi intensywnościami pików w widmach spektralnych. Biokompozyty na bazie tymianku przeważnie wykazywały podobne zachowanie, z wyjątkiem najwyższego napełnienia, które konsekwentnie wykazywało spadek ze względu na wysoką zawartość napelniacza. Biokompozyty napełnione szałwią wykazały zmienne zachowanie, przy czym wyższe stężenia napelniacza często prowadziły do zmniejszenia naprężenia i odkształcenia przy zerwaniu. Natomiast biokompozyty z rozmarynem wykazały najniższe wartości naprężenia i odkształcenia, a wzrost stężenia napelniacza dodatkowo zmniejszał wytrzymałość na rozciąganie. Zmiany te były głównie uzależnione od zawartości oraz rozmieszczenia napelniacza, a nie od struktury chemicznej, i były zgodne z wynikami widm w podczerwień. Warto zauważyć, że w przypadku opatrunków na rany, istotne jest zapewnienie odpowiedniej elastyczności nawet po ekspozycji na warunki przyspieszonej degradacji, które są bardziej wymagające niż typowe warunki użytkowania.

Pomimo iż, głównym celem tej pracy było opracowanie bioaktywnych materiałów o właściwościach antybakteryjnych do stosowania w opatrunkach na rany, przeprowadzono również uzupełniający test żywotności komórek, zapewnianający bezpieczeństwa ich użytkowania w kontakcie z organizmem. Biokompozyty na bazie tymianku konsekwentnie spełniały lub przekraczały 70% próg żywotności komórek, przy czym niższe stężenia napelniacza dawały optymalne wyniki dzięki korzystnym związkom takim jak tymol i taniny. Ekstrakt 10 dniowy dla biokompozytu napełnionego szałwią o zawartości wagowej 2.5% wykazywał znaczną poprawę żywotności, lecz

w dalszym ciągu wartość ta nie osiągała minimalną wymaganą liczbę żywych komórek. Jest to prawdopodobnie wynikiem przeciwdrobnoustrojowych i antyproliferacyjnych działań szaławii będących efektem jej związków fitochemicznych, takich jak kwas salwianolowy i luteolina . Wysoka zawartość napelniacza w biokompozytach na bazie tymianku zmniejszała żywotność komórek, prawdopodobnie ze względu na nadmiar bioaktywnych związków ograniczających proliferację komórek. Niemniej jednak wartości te pozostawały powyżej minimalnego wymaganego poziomu.

Podsumowując, teza pracy została potwierdzona. Wyniki jednoznacznie wskazują, że opracowane materiały bioaktywne wykazują zwiększoną aktywność antybakteryjną, zachowując jednocześnie niezbędne własności funkcjonalne do zastosowań medycznych zewnętrznych, takich jak opatrunki. Na podstawie przeprowadzonych badań i analiz stwierdzono, że:

1. Skład napelniaczy ziołowych miał wpływ na sieciowanie polidimetylosiloksanu, co wpłynęło na jego właściwości antybakteryjne i fizykochemiczne.
2. Gęstość napelniaczy i ich zawartość polifenoli były powiązane z metodami modyfikacji. Ekstrakty wykazywały wyższe wartości, a niemodyfikowane zioła najniższe, co sugeruje korzystne efekty przeprowadzonych modyfikacji.
3. Obróbki alkoholem i parą wodną zmniejszyły poziom terpenów i kwasów tłuszczowych w szaławii i rozmarynie, co poprawiło własności wytrzymałościowych ale zmniejszyło aktywność antybakteryjną. Modyfikowane napelniacze miały niższą skuteczność antybakteryjną w porównaniu do niemodyfikowanych.
4. Geometria cząsteczek napelniaczy i ich zdolność do zwilżania matrycy wpływały na własności mechaniczne. Cząsteczki ekstraktów, dzięki swojej regularnej formie, lepiej zwilżały matrycę, podczas gdy rozmiar cząsteczek miał istotny wpływ na zbadane własności.
5. Biokompozyty z ziołami modyfikowanymi miały nieznacznie wyższą gęstość, ale zmniejszoną wytrzymałość na rozciąganie w porównaniu do PDMS. Niemniej jednak wykazywały lepsze własności w porównaniu do biokompozytów z niemodyfikowanymi ziołami, a twardość pozostała na podobnym poziomie dla wszystkich materiałów.

6. Napełniacze ziołowe nie zmieniły hydrofobowości PDMS, co pomaga w zapobieganiu zakażeniom bakteryjnym, ale zmniejszyły odporność na ścieranie i odbojność, co jest związane ze zmniejszoną krystalicznością.
7. Przyspieszona degradacja w środowisku sztucznego osocza była zróżnicowana, przy czym biokompozyty na bazie tymianku wykazywały najwyższe wartości naprężeń i wydłużeń, a kompozyty na bazie rozmarynu najniższe. Wysoka zawartość napełniaczy przyspieszała degradację, podczas gdy wyniki dla biokompozytów z rozmarynem sugerowały dalsze sieciowanie. Pomimo zmian, wszystkie kompozyty zachowały zadowalające własności mechaniczne.
8. Kompozyty na bazie tymianku były nietoksyczne i miały ponad 70% przeżywalności komórek. Kompozyty na bazie szałwii miały niewystarczającą przeżywalność komórek, a wyższa zawartość napełniacza zwiększała cytotoksyczność.
9. Metody przygotowania napełniaczy, w tym sedymentacja, aglomeracja, twardość, rozmiar cząsteczek i skład fitochemiczny, miały istotny wpływ na własności materiałów i przyczyniły się do zmienności wyników testów.