

# BADANIE SPĘCZNIANIA MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) (PED)

PIOTR PROWANS

KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I CHIRURGII RĘKI PAM W SZCZECINIE

**Słowa kluczowe:** spęcznianie, kopolimery, nośnik antybiotyku.

[*Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 109-111*]

## Wstęp

Jedną z cech charakteryzujących związki wielkocząsteczkowe (polimery) jest zdolność penetrowania substancji ciekłych do ich struktury. Zjawisko to nazywane jest spęcznianiem i zależy od właściwości fizykochemicznych polimerów oraz właściwości rozpuszczalnika. Rozpuszczalnik penetrując do struktury polimeru powoduje rozpad wiązań między jego cząsteczkami. W przypadku tworzyw rozpuszczalnych może to doprowadzić do całkowitego zniszczenia struktury tworzywa. Przedmiotem badania jest kopolimer multiblokowy poli(alifatyczno/aromatyczny-ester) (PED) zawierający 26% wag. poli(tereftalanu butylenu) (PBT) - segment sztywny oraz 74%wag. dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DFA) - segment giętki [1, 2]. Wcześniejsze badania tego materiału wykazały, że jest on nierozpuszczalny w wodzie, natomiast ulega spęcznieniu rozpuszczalnikami organicznymi [3]. Daje to podstawę przypuszczać, że można w ten sposób wprowadzić do jego struktury cząsteczki antybiotyków.

## Cel pracy

Celem pracy jest określenie ilościowe spęczniania kopolimeru blokowego wodnymi roztworami antybiotyków.

## Materiał i metoda

Do badań wykorzystano próbki kopolimeru w postaci żyłki o przekroju eliptycznym 3,0 x 4,0 mm i długości 10 mm.

Spęcznianie oceniano na podstawie przyrostu masy po 3, 6, 12 i 24 godzinach inkubowania polimerów w temperaturze 24°C i 37°C. Próbę kontrolną stanowiły próbki kopolimeru spęczniane wodą podwójnie destylowaną. Efekt biologiczny działania wchłoniętych do kopolimeru antybiotyków sprawdzono w warunkach *in vitro* badając strefy zahamowania wzrostu gronkococcus złocistych (S.a.) na podłożu Muller - Hinnton (MHA). Kontrolę efektu biologicznego stanowiły strefy zahamowania powstałe dookoła wzorcowych krążków z antybiotykami stosowanymi w metodzie dyfuzyjno - krążkowej do oznaczania wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki. Ilość antybiotyku w krążku przedstawia TAB.1. Doświadczenie powtórzono trzy razy.

## Wyniki

RYS. 1 i 2 przedstawia strefy zahamowania wzrostu gron-

# SWELLING BEHAVIOUR OF MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) (PED)

109

PIOTR PROWANS

DEPARTMENT OF GENERAL AND HAND SURGERY, POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY IN SZCZECIN

**Key words:** swelling, copolymers, antibiotic carrier

[*Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 109-111*]

## Introduction

One of the characteristic feature of macromolecular compounds is the ability to be penetrated by liquid substances into their structure. This phenomenon is called swelling and depends on physicochemical properties of a polymer and solvent. Solvent penetrating into polymer structure causes the break-up of bonds among the macrochain. In case of soluble materials it can lead to total destruction of the material structure. The subject of investigation was multiblock poli(aliphatic/aromatic-ester) (PED) copolymer containing 26 wt% of poly(butylenes terephthalate) (PBT) - hard segment and 74 wt% of dimer fatty acid (DFA) - soft segment [1, 2]. Previous investigations of this material showed, that it is not soluble in water, however it undergoes swelling in presence of organic solvents [3]. Based on above features is possible to make an effort to introduce an antibiotic particles into copolymer structure.

## Aim of work

The aim of this work was quantitative evaluation of a multiblock copolymer swelling behaviour in a presence of water solutions of antibiotics.

## Material and method

Samples of copolymer in a form of thread with elliptic cross-section of 3,5 x 4,5 mm and length 15 mm were used for investigations.

Swelling behaviour was estimated from the increase of mass after 3, 6, 12 and 24 hours of incubation of polymers in antibiotics solutions at the temperature 24°C and 37°C. Copolymers immersed in double distilled water were used as a reference. The biological effect of absorbed antibiotics was evaluated *in vitro* by measuring inhibition zones of *Staphylococcus aureus* on a Muller-Hinton substrate (MHA). The control inhibition zone was read from the standard clinical discs used in HMA test. The amount and concentration of antibiotics used in this method shows TABLE 1. Experiments were repeated three times.

## Results

FIGS. 1 and 2 show inhibition zones of *Staphylococcus aureus* for copolymer samples after incubation in different antibiotics.

Grupa chemiczna Chemical group	Antybiotyk Antibiotic	Stężenie Concentration [mg/ml]	Ilość antybiotyku w krążku Amount of antibiotic in disc [μg]
Penicyliny Synthetic Penicillins	Piperacylina / Piperacillin	200	100
	Amoksylicyna/kwas klawulonowy Amoxicillin/clavulanic acid	100	20
Cefalosporyny B-lactams	Cefuroksym II gen. Cefuroxime – cefalospor. II gen.	150	30
	Cefamandol II gen. Cefamandole – cefalospor. II gen.	100	30
	Ceftazydim III gen. Ceftazidime – cefalospor. II gen.	100	30
	Ceftriakson III gen. Ceftriaxon – cefalospor. III gen.	100	30
Aminoglikozydy Aminoglycosides	Gentamycyna Gentamycin	10, 40, 80, 160, 320	10
	Amikacyna / Amikacin	100	30
Chinolony Quinolons	Ciprofloksacyna / Ciprofloxacin	10	5
	Pefloksacyna / Pefloxacin	80	5
Glikopeptydy Glycopeptides	Wankomycyna Vancomycin	100	30
Linkozamidy Linkosamides	Klindamycyna Clindamycin	150	2

**TABELA 1. Wykaz antybiotyków zastosowanych do spęczniania PED oraz zawartość antybiotyku we wzorcowym krążku.**

**TABLE 1. List of antibiotics used to swell PED and concentration of antibiotic in standardized disc.**

Czas Time [h]	Stężenie gentamycyny gentamycin concentration [mg/ml]							
	40		80		160		20	
	Przyrost masy [%], temp. 24°C mass increase [%], temp. 24°C				Przyrost masy [%], temp. 37°C mass increase [%], temp. 37°C			
3	0,14	0,92	0,14	0,24	0,25	0,15	0,48	0,32
6	0,27	0,18	0,14	0,48	0,50	0,15	0,64	0,64
12	1,64	0,92	0,57	0,72	1,13	0,77	1,28	0,48
24	2,31	2,21	4,12	1,45	2,27	0,92	2,57	1,27

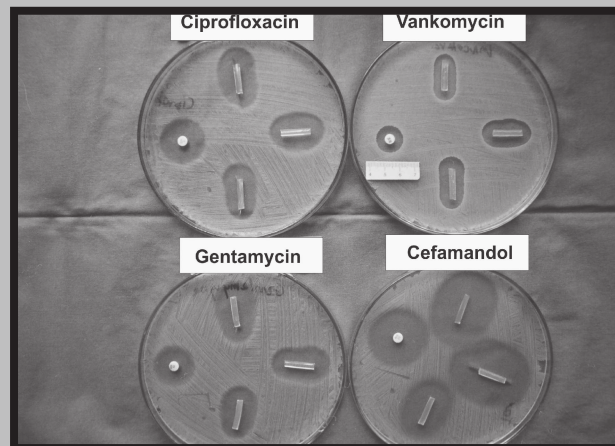
**TABELA 2. Przyrost masy kopolimeru PED po spęcznieniu gentamycyną.**

**TABLE 2. Increase of PED copolymer mass after incubation in gentamycin.**

kowców złocistych dla poszczególnych próbek kopolimeru spęcznionych roztworami poszczególnych antybiotyków.

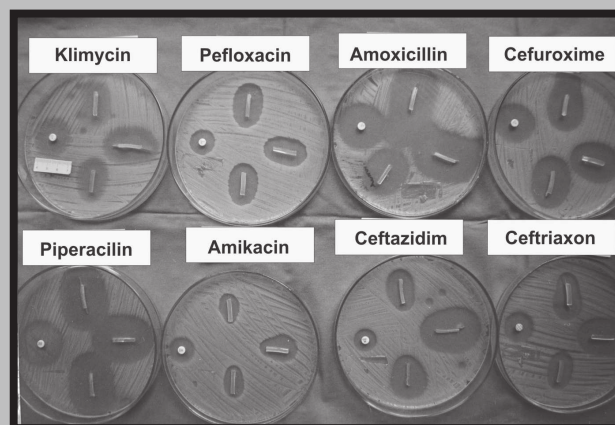
## Omówienie

Przedstawione doświadczenie wykazuje niewielkie różnice przyrostu masy spęcznionych kopolimerów związane z czasem i temperaturą. Wpływ stężenia leku zbadany na przykładzie gentamycyny wydaje się nie mieć znaczenia na wielkość przyrostu masy kopolimeru. Duża różnica mas próbek po spęcznieniu wodnymi roztworami antybiotyków w stosunku do spęczniania wodą wskazuje, że jest ona spowodowana przyłączeniem cząsteczek antybiotyku do polimeru. Na obecność antybiotyku w tworzywie wskazuje efekt biologiczny, a także wcześniejsze badania nad uwalnianiem gentamycyny [4]. Z badań tych wyniosowano, że 1 g tworzywa uwalnia około 10-15 mg gentamycyny. Dokładna analiza ilości wchłoniętego antybiotyku będzie przedmiotem oddzielnego doniesienia. Strefy zahamowania wzrostu S.a. dookoła próbek kopolimeru PED były równe lub większe od stref powstałych dookoła krążków zawierających analogiczne antybiotyki (RYS. 1, 2). Oznacza to, że stężenie antybiotyku uwolnionego z kopolimeru PED do pod-



**RYS. 1. Strefy zahamowania wzrostu wokół polimerów impregnowanych różnymi antybiotykami.**

**FIG. 1. Inhibition zones of St.a. for copolymer samples after incubation in different antibiotics.**



**RYS. 2. Strefy zahamowania wzrostu wokół polimerów impregnowanych różnymi antybiotykami.**

**FIG. 2. Inhibition zones of St.a. for copolymer samples after incubation in different antibiotics.**

## Discussion

Described experiment shows small differences in increase of mass of incubated copolymers with the time and temperature. Also change of antibiotic concentration, examined for gentamycin, seems to have no effect on increase of the copolymer mass. Large difference of polymer mass after incubation in water and solutions of antibiotics shows to be caused by attaching of antibiotic particles into polymer structure. The biological effect is an evidence for the presence of antibiotic in the material, as well as earlier studies on gentamycin release [4]. From these studies we know that 1 g of material releases about 10-15 mg of gentamycin. Exact analysis of quantity of absorbed antibiotic will be the object of a separate report. Inhibition zones of S.a. around samples of PED copolymer were comparable or even larger than zones around discs including analogous antibiotics (FIG. 1, 2). It means that concentration of released antibiotic from PED copolymer is higher than minimum inhibitory concentration (MIC), which for S.a. stain was for gentamycin 1 mg/L, for vancomycin 1 mg/L and for ciprofloxacin 0,5 mg/L. Observed biological effect shows,

Antybiotyk Antibiotic	Przyrost masy kopolimeru [%] ( średnia z 3 próbek ) Increase of copolymer mass [%] ( average from 3 samples )					
	temperatura inkubacji 24°C incubation temperature 24°C			temperatura inkubacji 37°C incubation temperature 37°C		
Czas [ h ] Time [ h ]	3	12	24	3	12	24
Amikacyna Amikacin	0,16	0,18	0,16	0,18	0,21	0,36
Wancomycyna Vancomycin	0,08	0,17	0,38	0,15	0,23	0,63
Cefamandol	0,09	0,09	0,19	0,24	0,21	0,24
Ceftazydym Ceftazidim	0,10	0,23	0,22	0,20	0,25	0,81
Piperacylina Piperacilin	0,10	0,16	0,13	0,14	0,15	0,41
Ciprofloksacyna Ciprofloxacin	0,04	0,04	0,12	0,07	0,14	0,15
Klindamycyna Klimicin	0,05	0,25	0,86	*	*	*
Amoksycylina/kw. kław Amoxicillin/ klavulonic acid	0,08	0,11	0,23	*	*	*

**TABELA 3. Przyrost masy kopolimeru PED po spęcznieniu różnymi antybiotykami. (\* brak danych).**

**TABLE 3. Increase of PED copolymer mass after incubation with different antibiotic. (\* no data).**

łoża w obrębie strefy zahamowania wzrostu S.a. przekraczało minimalne stężenie hamujące (MIC), które dla użytego szczepu S.a. wynosiło: dla gentamycyny 1mg/l, dla wancomycyny 1mg/l, dla ciprofloksacyny 0,5 mg/l. Obserwowany efekt biologiczny wskazuje, że poszczególne antybiotyki łączą się z badanym kopolimerem PED a następnie uwalniają się do otoczenia zachowując swoje właściwości antybakteryjne. Badania mikrobiologiczne wykazały, że 12 godzinny okres inkubacji wystarcza dla uzyskania efektu biologicznego jednakowego z krążkami stosowanymi w metodzie dyfuzyjno-krążkowej. Daje to podstawy przypuszczać, że badany kopolimer blokowy może być wykorzystany jako nośnik antybiotyku.

## Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu KBN nr 4T09B 10822.

## Piśmiennictwo

- [1] El Fray M., Słonecki J., Broza G.: Krystalizacja fazy stopionej segmentowych aromatyczno-alifatycznych kopolimerów (estero-estrów) na podstawie poli(tereftalanu butylenu) i dimeryzowanego kwasu tłuszczowego, *Polimery*, 42 (1997) 35-39.  
 [2] El Fray M., Słonecki J.: Multiblock copolymers consisting of polyester and polyaliphatic blocks, *Angew. Makromol. Chem.*, 234 (1996) 103-117.

Czas [ h ] Czas [ h ]	Przyrost masa kopolimeru [%] ( średnia z 3 próbek ) Increase of copolymer mass [%] ( average from 3 samples )					
	temperatura inkubacji 24°C incubation temperature 24°C			temperatura inkubacji 37°C incubation temperature 37°C		
	3	12	24	3	12	24
Woda Water	0,08	0,09	0,09	0,07	0,12	0,15

**TABELA 4. Przyrost masy kopolimeru po spęcznieniu wodą podwójnie destylowaną.**  
**TABLE 4. Increase of PED copolymer mass after incubation in double distilled water.**

that individual antibiotics attaches to PED copolymer and then releases to environment maintaining antibacterial properties. Microbiologic experiment showed that 12 hour period of incubation gave equal effect with control discs applied in a standard clinical zone inhibition method. This can suggest that studied block copolymer can be used as carrier of antibiotic.

## Acknowledgements

This work was financially supported by the project of KBN No. 4T09B 10822.

## References

- [3] El Fray M., Altstadt V.: Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 2. Dynamic creep of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers.: *Polymer*, 45 (2004) 253-273.  
 [4] Prowans P.: Release of Gentamycin from new copolymer - in vitro study, *Engineering Biomateriałów*, 34 (2004) 38-41.