

WEBINARIUM

WARSTWY POLIMERÓW GWIEŹDZISTYCH O WŁAŚCIWOŚCIACH ANTYBAKTERYJNYCH

CMPW
PAN

dr Barbara Mendrek – Centrum Materiałów Polimerowych
i Węglowych PAN, Zabrze

21 kwietnia 2022

Warstwy polimerów gwieździstych o właściwościach antybakteryjnych

Barbara Mendrek

*Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk,
ul. M. Curie-Skłodowskiej 34, 41-819 Zabrze*

Rodzaje polimerów gwieździstych

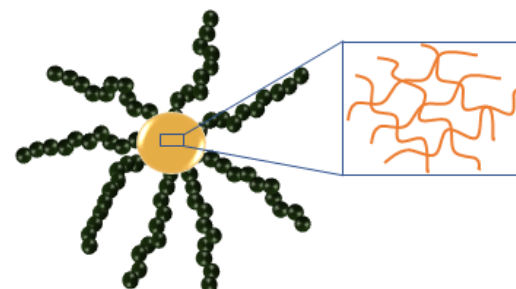
A)



Gwiazda z wielofunkcyjnym małowcząsteczkowym rdzeniem



Gwiazda z rdzeniem rozgałęzionym lub o budowie dendrymeru

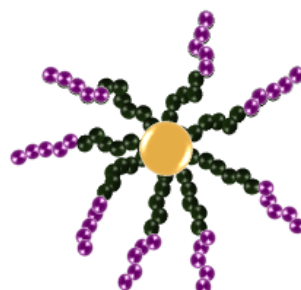


Gwiazda z rdzeniem w formie usieciowanego mikrożelu

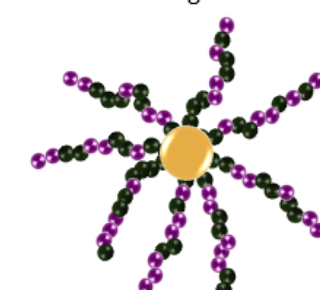
B)



Gwiazda z homopolimerowymi ramionami



Gwiazda z ramionami kopolimerów blokowych

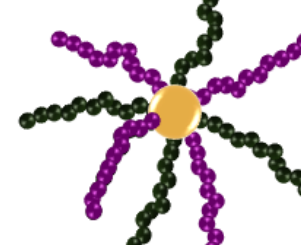


Gwiazda z ramionami kopolimerów statystycznych

C)



Gwiazda miktoramienna z ramionami polimeru o różnej masie molowej



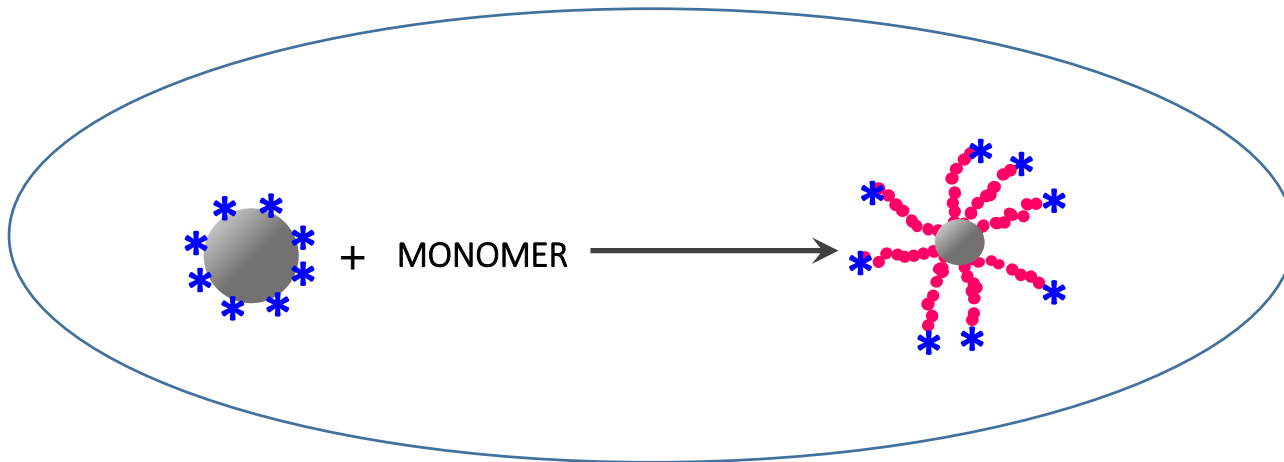
Gwiazda miktoramienna z ramionami różnych polimerów



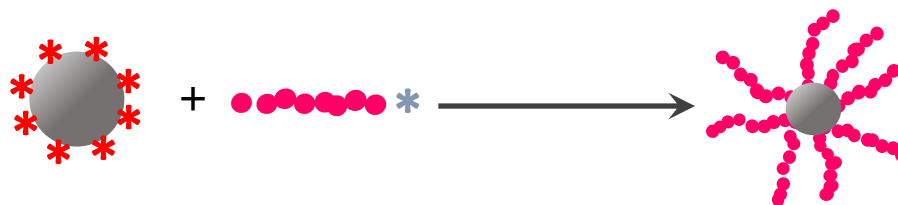
Gwiazda miktoramienna z ramionami polimeru z różnymi grupami funkcyjnymi na końcach łańcuchów

Metody otrzymywania polimerów gwiazdzistych

Otrzymywanie gwiazd metodą „rdzeń-najpierw”

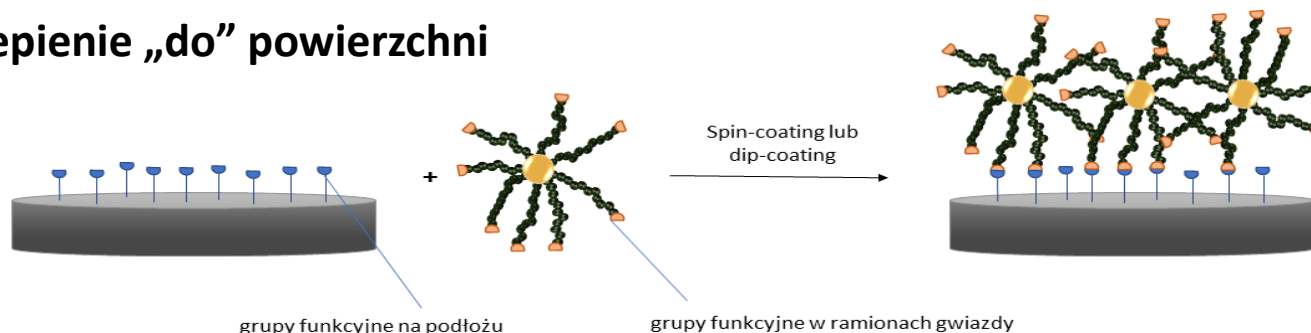


Otrzymywanie gwiazd metodą „ramię-najpierw”



Metody otrzymywania warstw polimerów gwieździstych

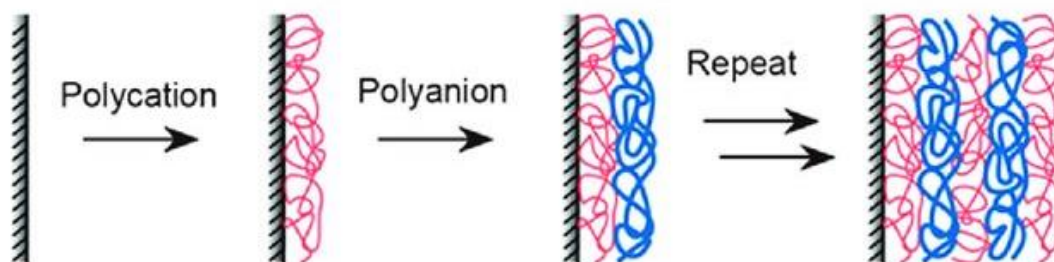
✓ Szczepienie „do” powierzchni



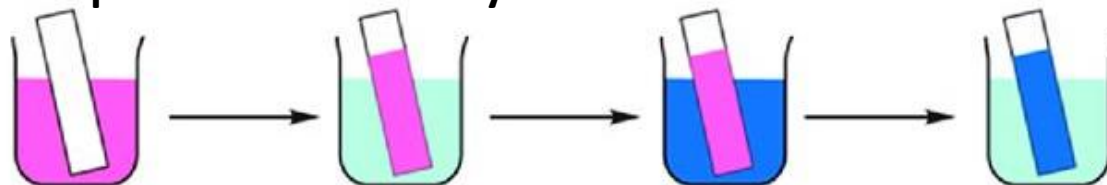
✓ Szczepienie „od” powierzchni



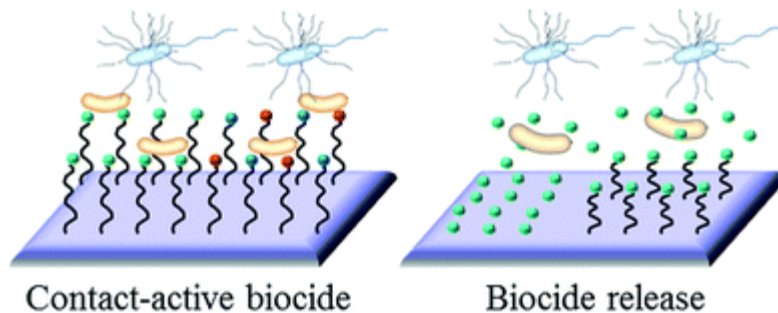
✓ Warstwa po warstwie („layer by layer”)



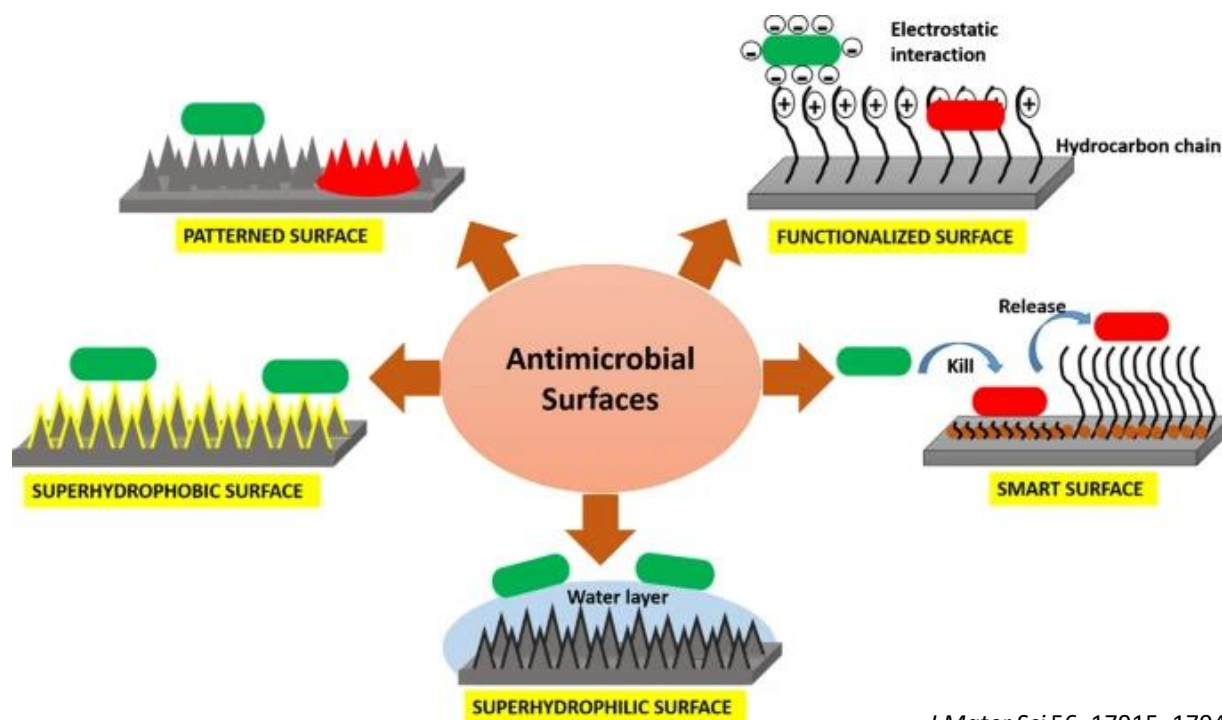
✓ Adsorpcja na powierzchniach stałych



Powierzchnie antybakteryjne



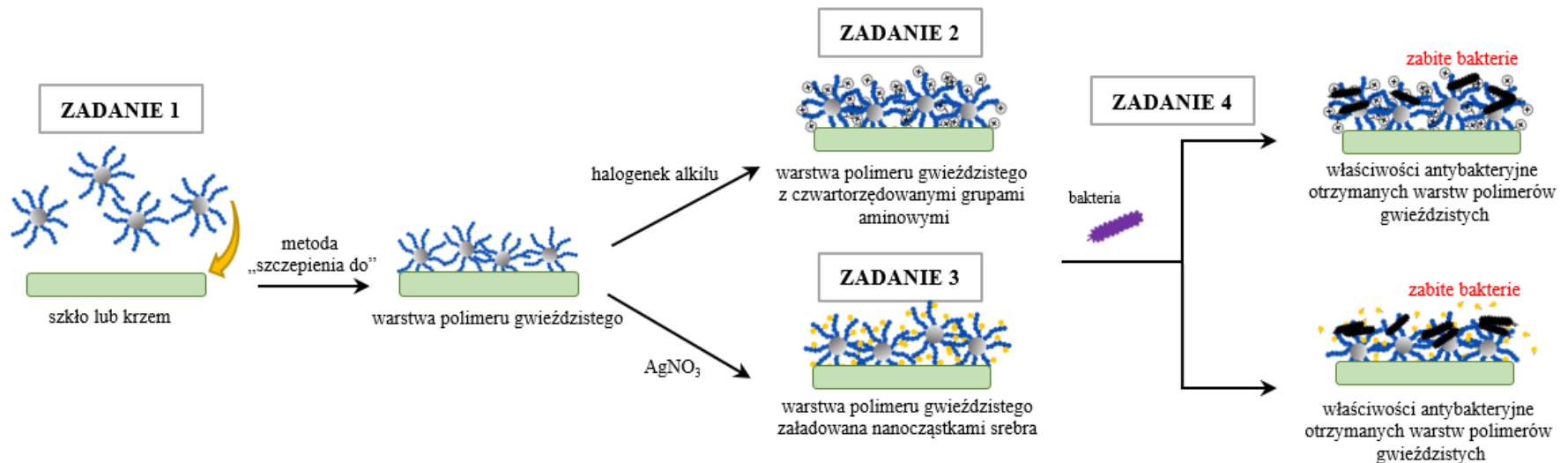
[RSC Adv.](#), 5, 48739-48759, 2015



J Mater Sci 56, 17915–17941, 2021

Nanowarstwy polimerów gwieździstych o właściwościach antybakteryjnych – grant SONATA

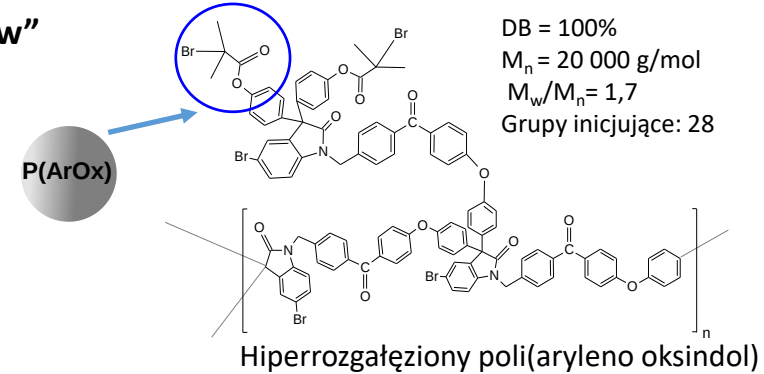
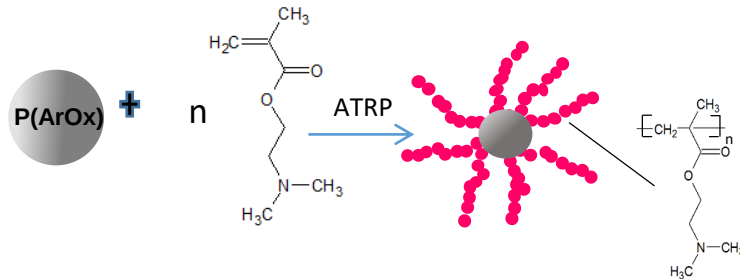
Celem projektu jest zaprojektowanie w nanoskali warstw polimerów gwieździstych na powierzchni (szczepionych kowalenyjnie), o potencjalnym działaniu antybakteryjnym.



Badania właściwości antybakteryjnych wykonano w Instytucie Ekologii Terenów Przemysłowych w Katowicach

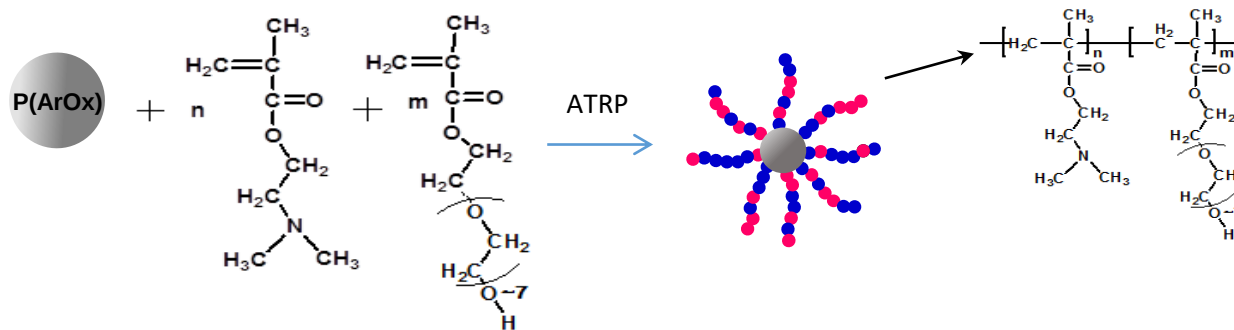
Synteza polimerów

- Synteza gwieżdźistego polimeru-DMAEMA metodą „rdzeń najpierw”



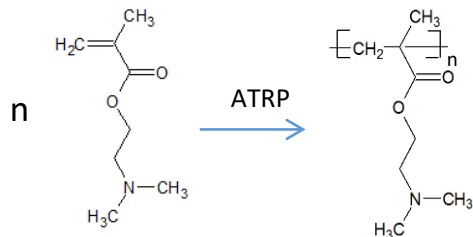
B. Mendrek, Ł. Sieroń, M. Libera, M. Smet, B. Trzebicka, A. L. Sieroń, A. Dworak, A. Kowalcuk *Polymer* 2014, 55, 4551-4562

- Synteza kopolimerów gwieżdźistych –P(DMAEMA-OEGMA-OH)



Mendrek B., Żymełka-Miara I., Binkiewicz P., Libera M., Smet M., Trzebicka B., Sieroń A., Kowalcuk A., Sieroń Ł., Dworak A., *Biomacromolecules*, 16, 3275-3285, 2015

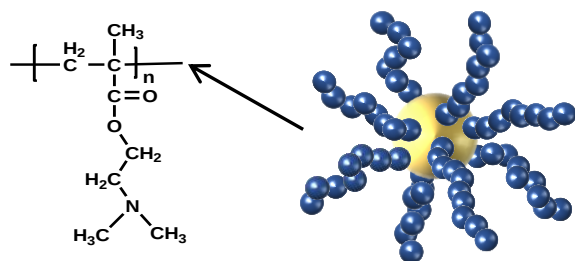
- Synteza polimeru liniowego DMAEMA



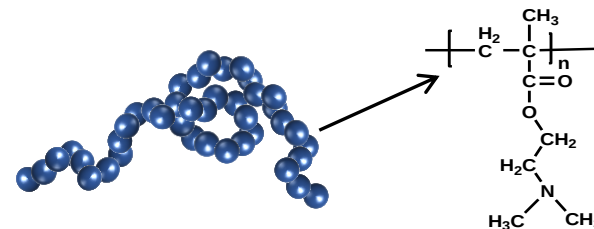
Zhang, X.; Xia, J.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* 1998, 31, 5167-5169

BADANIA POLIMERÓW W ROZTWORZE

Poli(metakrylan N,N'-dimetyloaminoetylu) - PDMAEMA

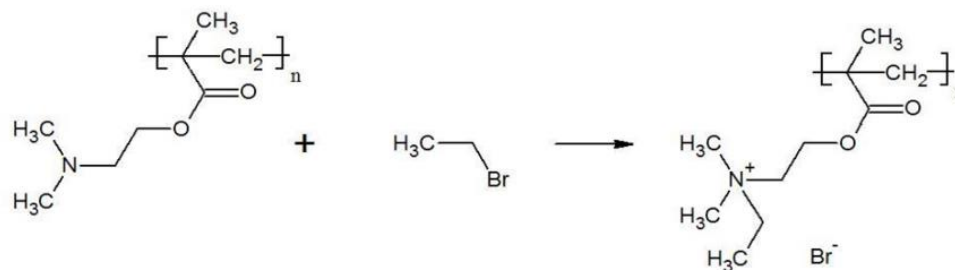


„Gwiazda” PDMAEMA



Liniowa PDMAEMA

Schemat reakcji czwartorzędowania



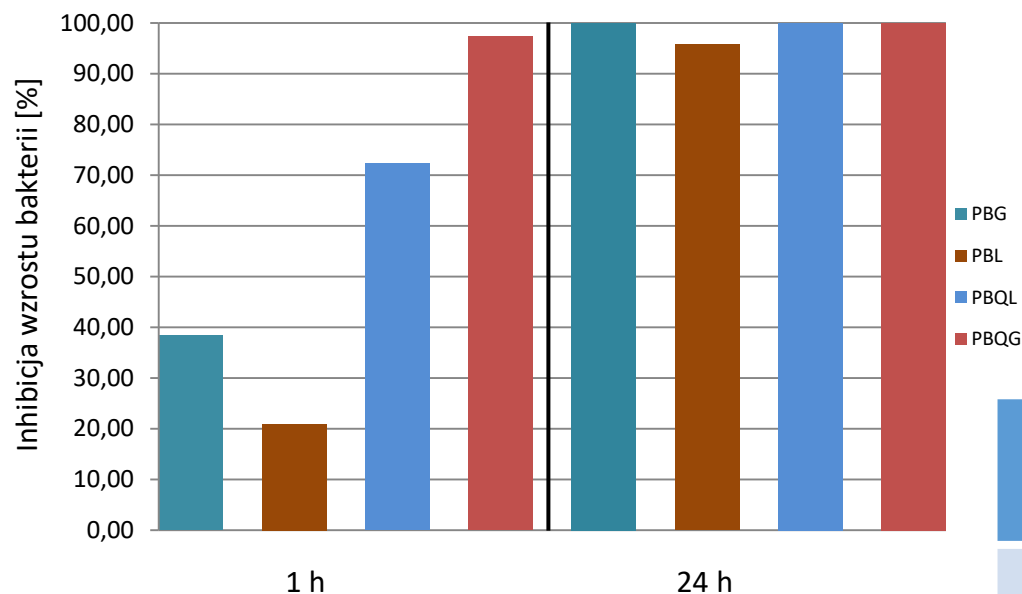
PDMAEMA

Bromek etylu

Czwartorzędowana PDMAEMA

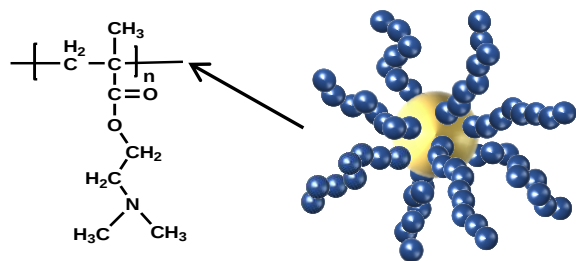
Właściwości antybakteryjne w roztworze

Metoda dynamicznego kontaktu względem bakterii *Bacillus subtilis* ATCC 6633

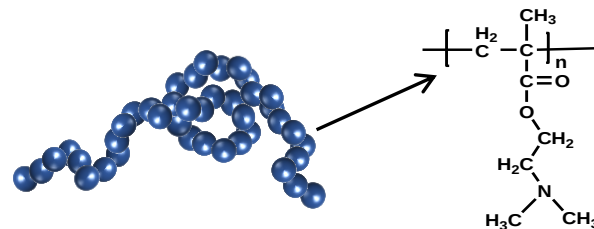


Próbka	Topologia polimeru	M _n GPC-MALLS [g/mol]
PBL	liniowa	8 500
PBLQ	liniowa czwartorzędowana	-
PBG	gwiazda	320 000
PBQG	gwiazda czwartorzędowana	-

Przygotowanie hybrydowych materiałów polimerowych z nanocząstkami srebra (AgNPs)

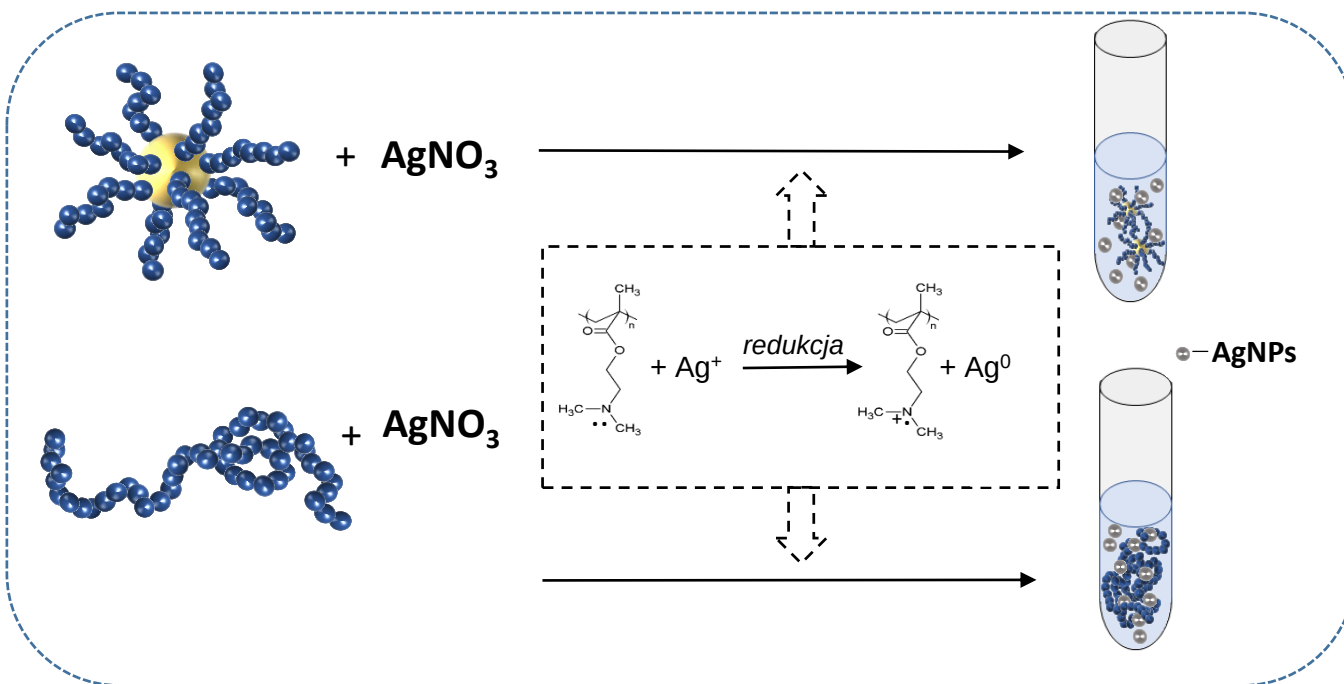


„Gwiazda” PDMAEMA

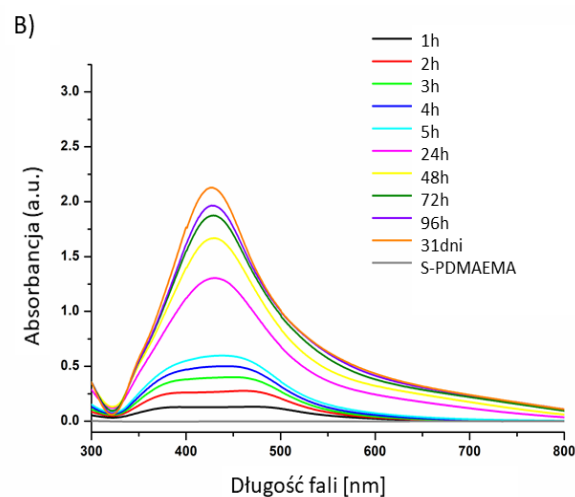
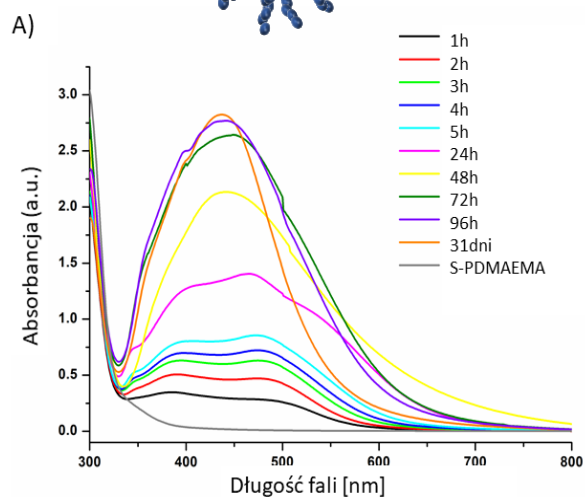
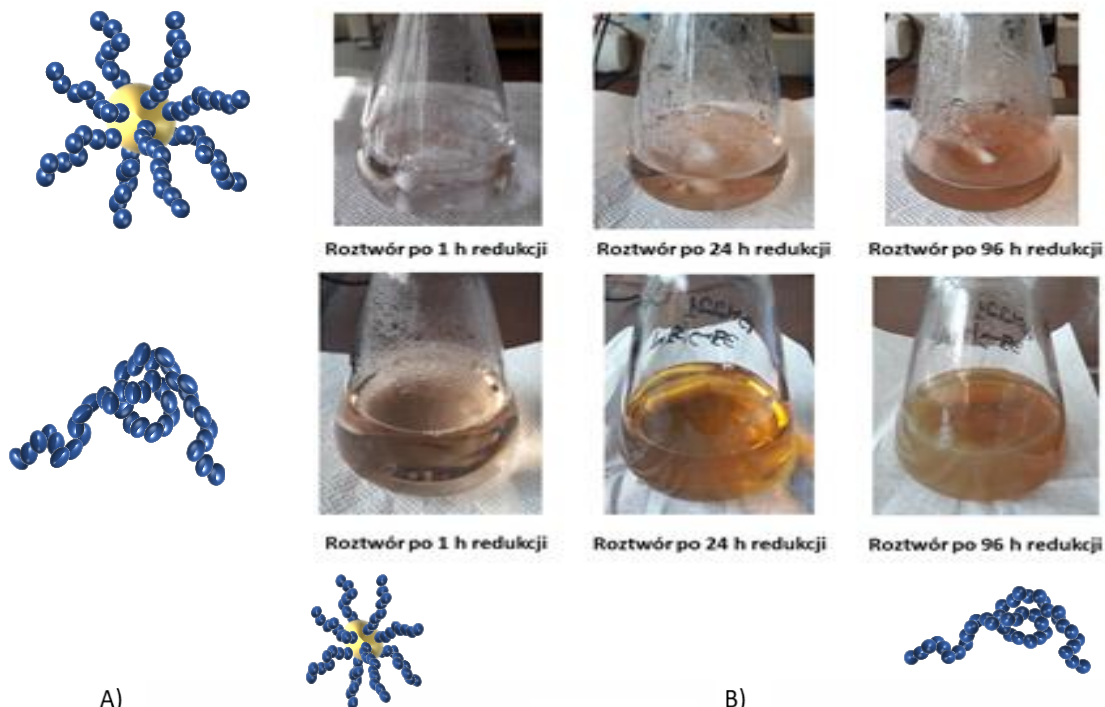


Liniowa PDMAEMA

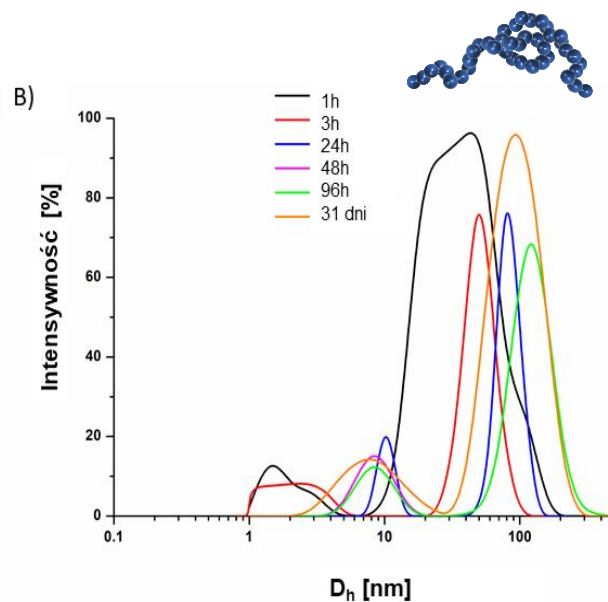
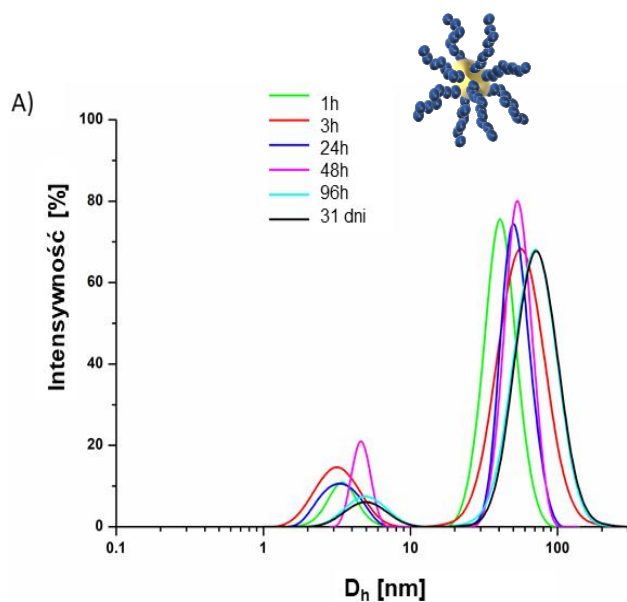
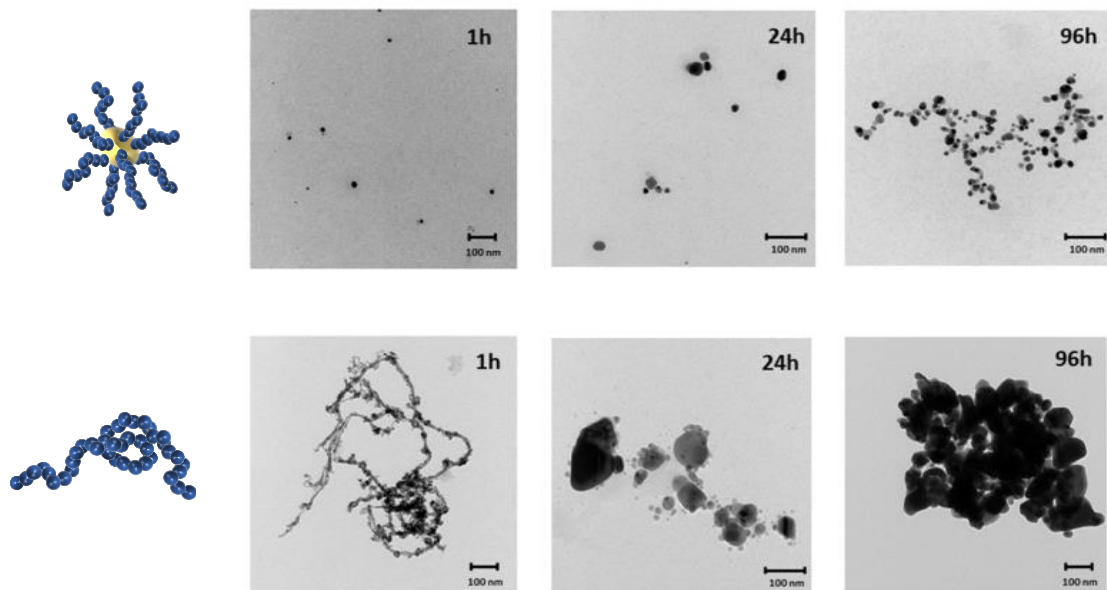
$M_n \sim 100\,000\text{ g/mol}$



Charakterystyka hybrydowych materiałów polimerowych z nanocząstkami srebra (AgNPs)

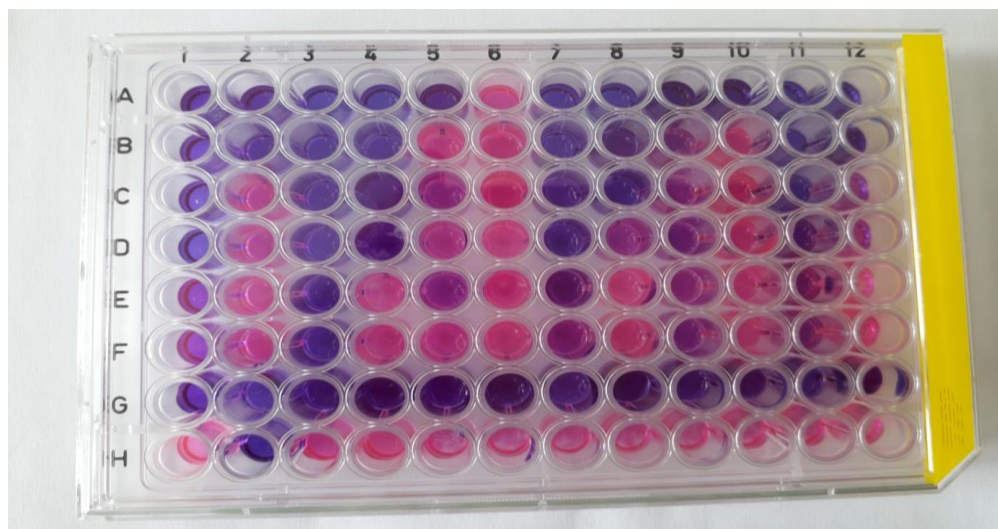


Charakterystyka hybrydowych materiałów polimerowych z nanocząstkami srebra (AgNPs)



Właściwości antybakteryjne hybrydowych materiałów polimerowych z nanocząstkami srebra (AgNPs)

Próbka	M_n [g/mol]	Szczep bakteryjny								
		Pseudomonas aeruginosa			Escherichia coli			Bacillus subtilis		
		MIC [mg/mL]	MBC [mg/mL]	MBC/MIC	MIC [mg/mL]	MBC [mg/mL]	MBC/MIC	MIC [mg/mL]	MBC [mg/mL]	MBC/MIC
S-PDMAEMA	115 000	0,03	0,03	1	0,03	0,03	1	0,03	0,03	1
AgNPs/S-PDMAEMA	115 000	0,01	0,01	1	0,01	0,01	1	0,01	0,01	1
L-PDMAEMA	100 000	0,125	0,125	1	0,125	0,125	1	0,03	0,03	1
AgNPs/L-PDMAEMA	100 000	0,01	0,01	1	0,02	0,02	1	0,01	0,01	1

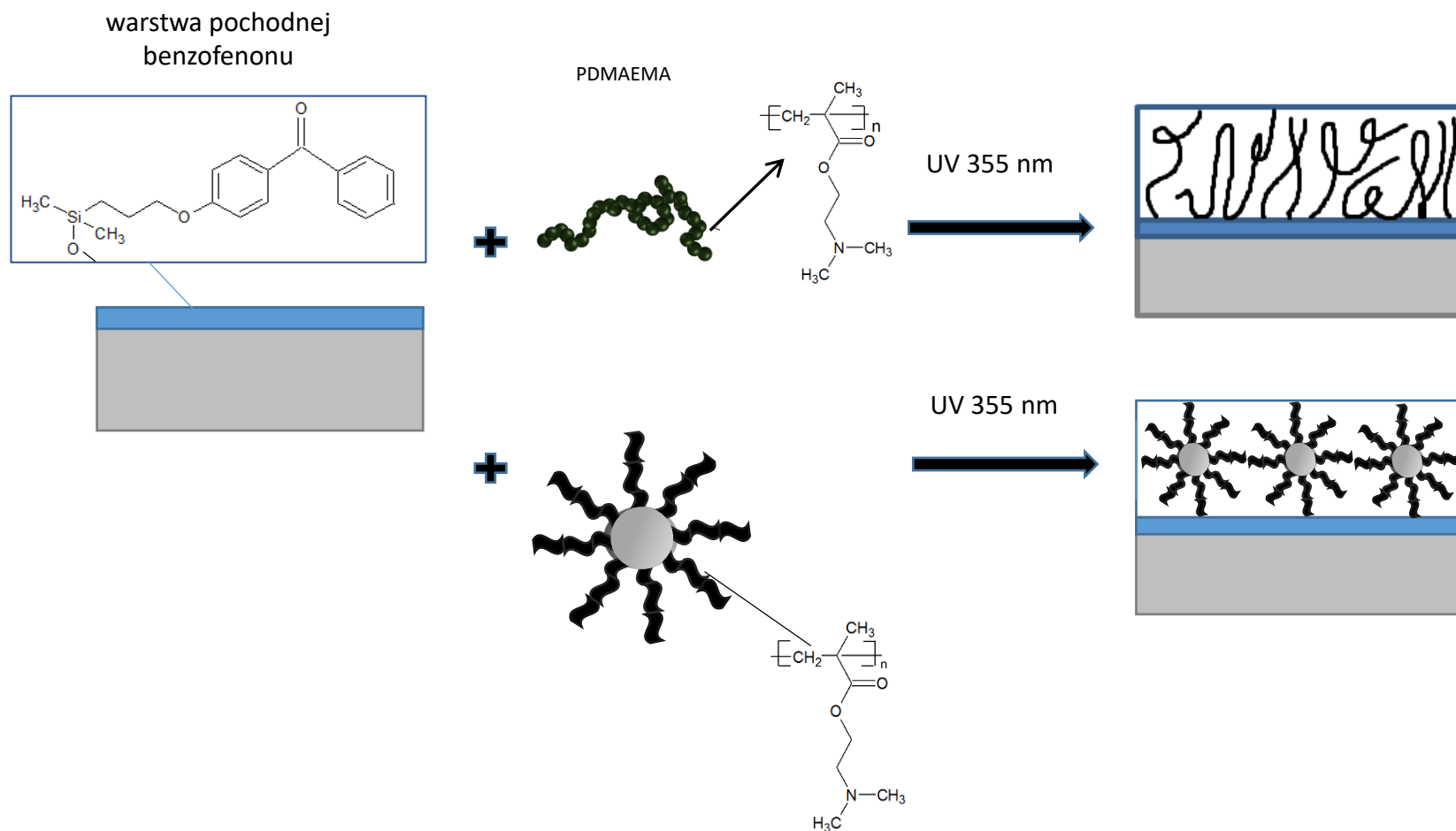


*Badania wykonano w Instytucie
Mikrobiologii Bułgarskiej Akademii
Nauk w Sofii*

WARSTWY POLIMEROWE

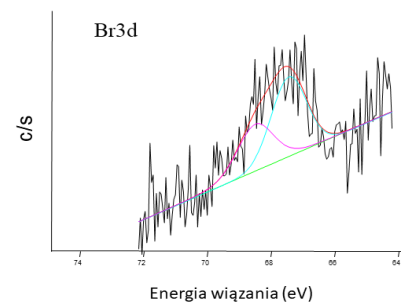
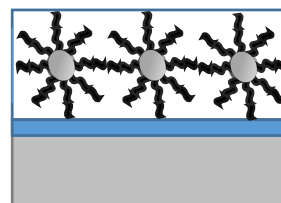
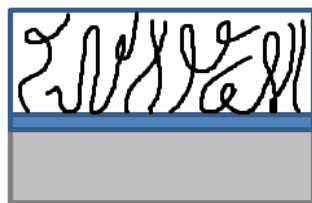
Otrzymywanie warstw polimerowych na podłożach krzemowych

✓ Metoda fotochemiczna

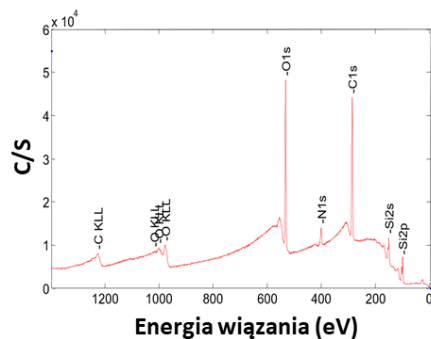


Charakterystyka warstw PDMAEMA

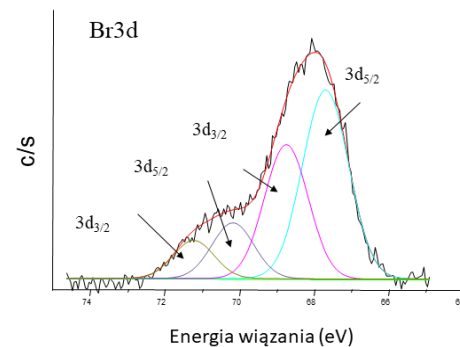
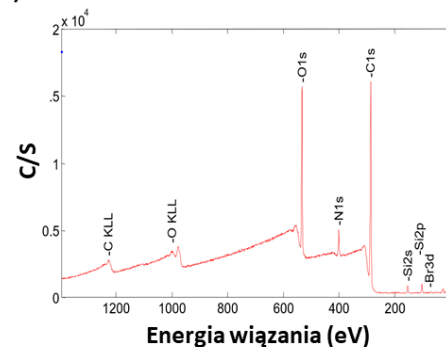
Próbka	M _n GPC-MALLS (g/mol)	Grubość warstwy AFM [nm]	Grubość warstwy elipsometria [nm]
S-L1	9000	4	3
S-L2	13 000	6	4
S-L3	16 000	7	6
S-L4	40 000	13	10
S-G1	320 000	31	50
S-G2	400 000	78	70
S-G3	560 000	70	87
S-G4	1 000 000	120	100



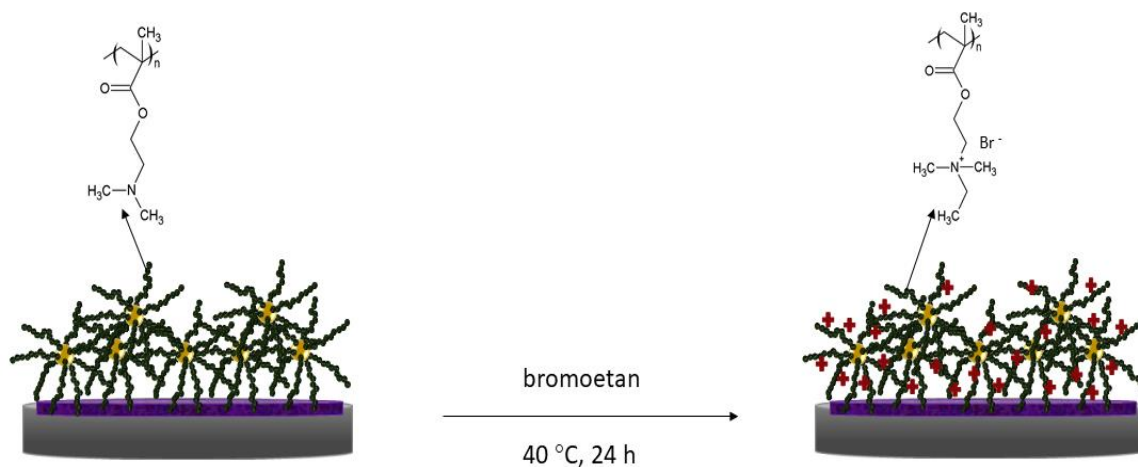
A)



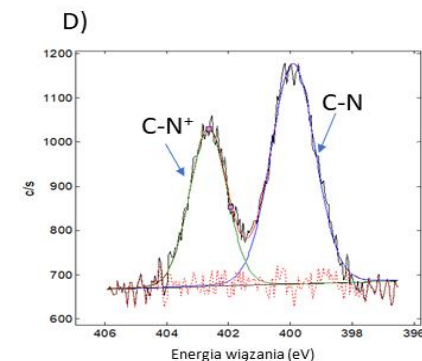
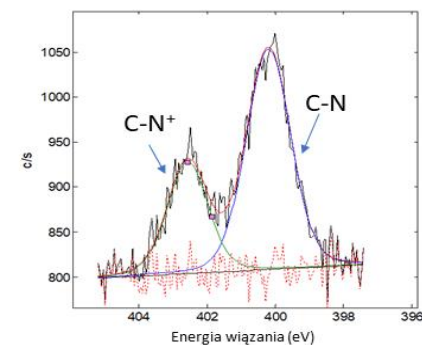
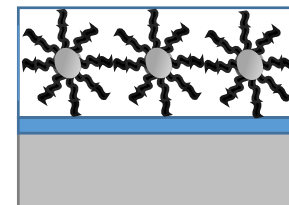
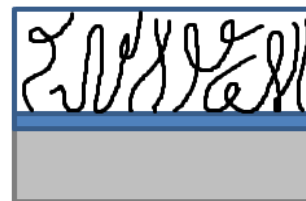
B)



Reakcja czwartorzędowania warstw PDMAEMA



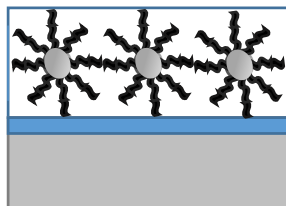
Próbka	Stężenie czwartorzędowanych grup aminowych na cm ² podłoża [mg/mL]	Liczba czwartorzędowanych grup aminowych na cm ² podłoża
S-QL2	0,005	$2,40 \times 10^{16}$
S-QL4	0,031	$1,49 \times 10^{17}$
S-QG2	0,323	$1,55 \times 10^{18}$
S-QG4	0,463	$2,22 \times 10^{18}$



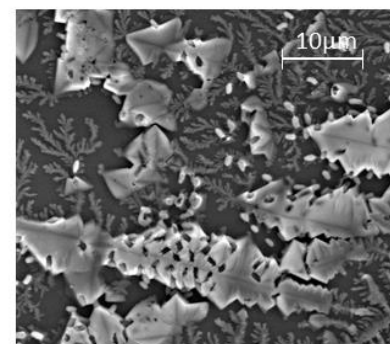
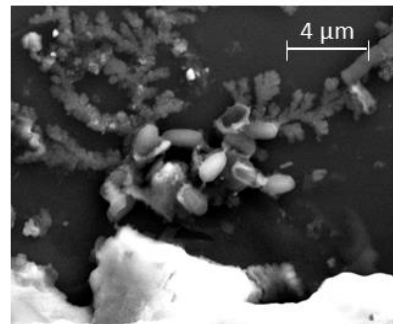
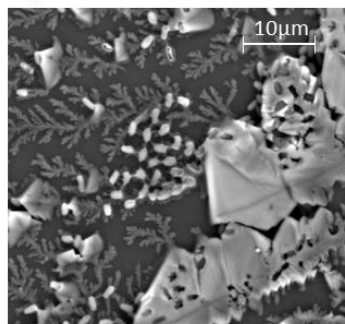
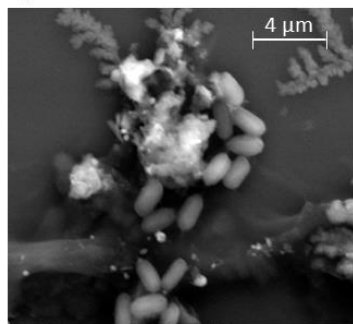
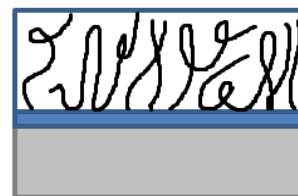
Właściwości antybakteryjne warstw PDMAEMA

Hamowanie wzrostu komórek bakteryjnych [%] (*Bacillus subtilis* ATCC 6633), warunki dynamicznego kontaktu

Nanowarstwa	Liczba kolonii bakteryjnych (CFU/mL*) 5 min	Zahamowanie wzrostu bakterii [%] 5 min	Liczba kolonii bakteryjnych (CFU/mL) 60 min	Zahamowanie wzrostu bakterii [%] 60 min	Liczba kolonii bakteryjnych (CFU/mL) 24 h	Zahamowanie wzrostu bakterii [%] 24 h
S-G4	$1,1 \cdot 10^6$	78	$1,01 \cdot 10^6$	80	$6,1 \cdot 10^5$	89
S-QG4	$3,3 \cdot 10^5$	93	$2,5 \cdot 10^6$	49	$7,2 \cdot 10^6$	0
S-L4	$6,2 \cdot 10^5$	88	$6,9 \cdot 10^6$	81	$2,4 \cdot 10^6$	62
S-QL4	$1,1 \cdot 10^6$	79	$1,6 \cdot 10^7$	0	$1,4 \cdot 10^6$	0
Kontrola	$5 \cdot 10^6$	-	$5,2 \cdot 10^6$	-	$6,2 \cdot 10^6$	-

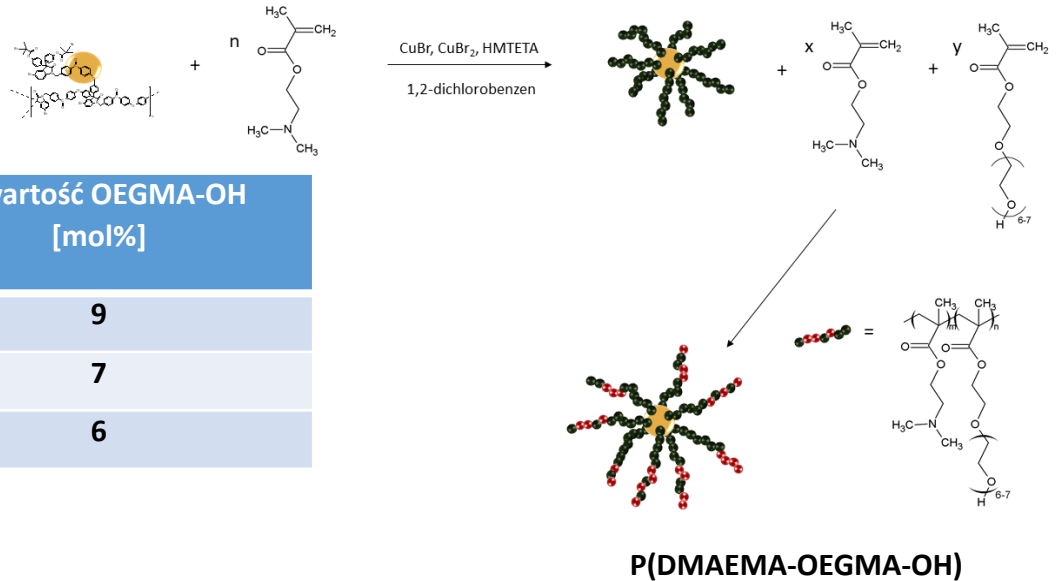


*Badania wykonano w
Instytucie Ekologii Terenów
Uprzemysłowionych w
Katowicach*

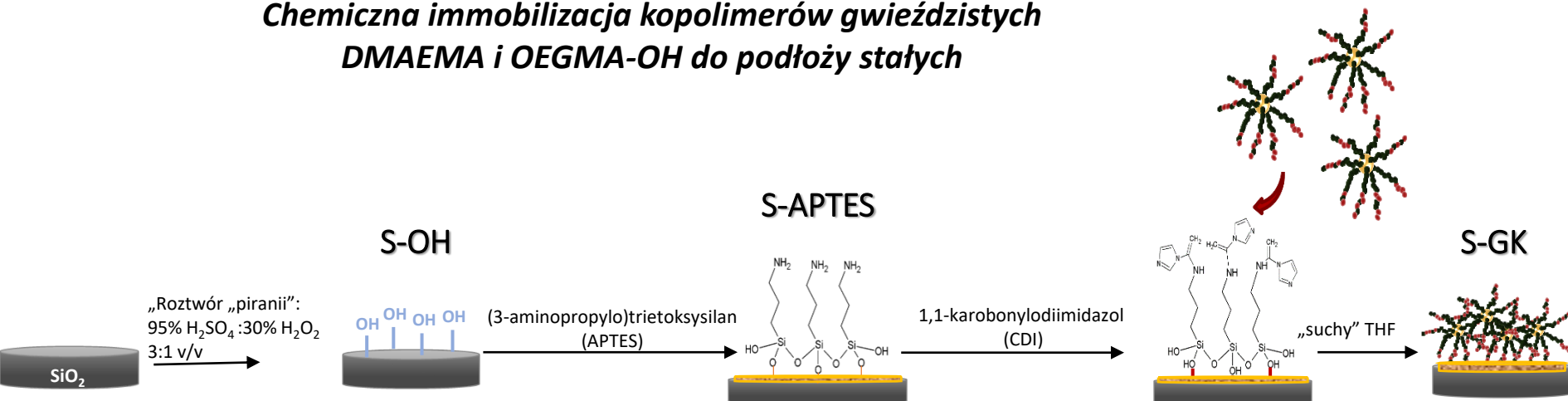


Tworzenie warstw kopolimerów gwieździstych

próbka	M_n [g/mol]	M_w/M_n	zawartość OEGMA-OH [mol%]
GK1	130 000	2,3	9
GK2	200 000	2,5	7
GK3	340 000	2,4	6



Chemiczna immobilizacja kopolimerów gwieździstych DMAEMA i OEGMA-OH do podłoży stałych

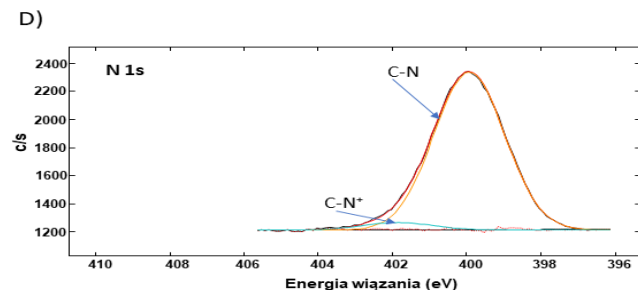
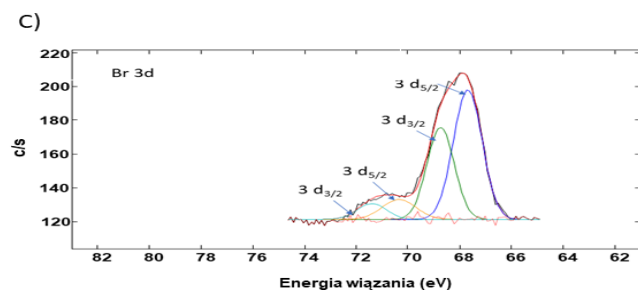
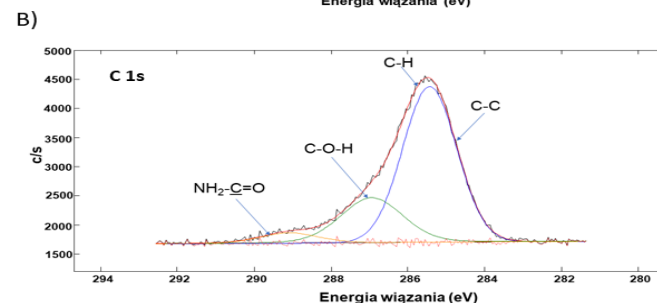
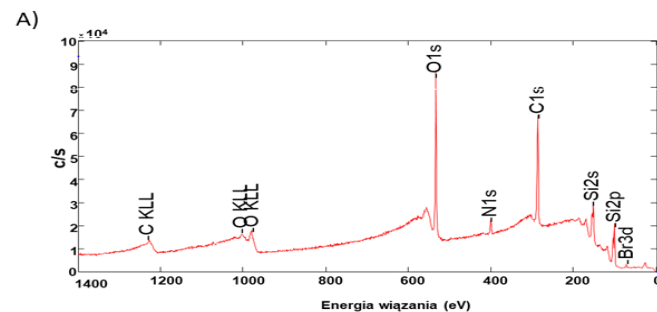


Charakterystyka warstw kopolimerów gwieździstych

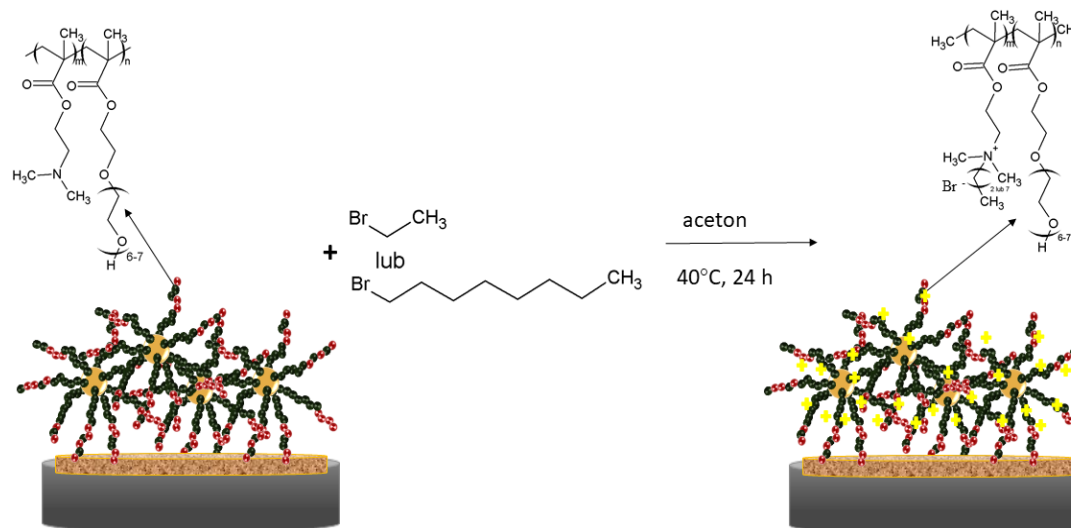
Próbka	Grubość suchej warstwy z elipsometrii [nm]	Grubość suchej warstwy z QCM [nm]	Kąt zwilżania [°]
S-OH	-	-	30±2
S-APTES	3±1	-	70±3
S-GK1	5±1	7±1	60±2 °
S-GK2	8±3	-	62±2 °
S-GK3	32±1	34±1	64±3 °

Skład powierzchni określony metodą XPS dla warstw P(DMAEMA-co-OEGMA-OH) po każdym etapie modyfikacji

Próbka	C [%]	O [%]	N [%]	Br [%]	Si [%]	C/O
S-OH	14,70	38,85	0,00	0,00	46,45	0,38
S-APTES	17,52	39,65	1,94	0,00	40,88	0,44
S-GK1	46,40	28,94	4,25	0,1	20,30	1,61
S-GK2	46,59	27,25	3,32	0,37	22,48	1,71
S-GK3	59,18	27,12	3,37	0,25	10,08	2,18

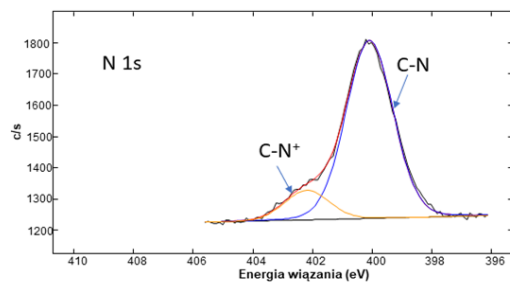


Reakcja czwartorzędowania warstw kopolimerów gwieździstych

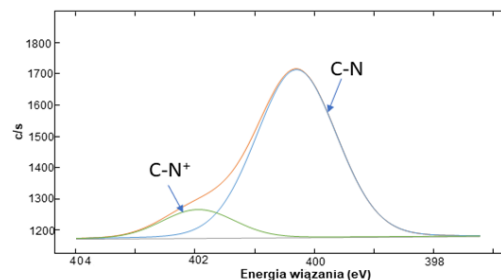


Próbka	Stężenie czwartorzędowanych grup aminowych na cm^2 podłoża [g/L]	Liczba czwartorzędowanych grup aminowych na cm^2 podłoża
S-QGK2- C_2	$2,79 \cdot 10^{-4}$	$4,47 \cdot 10^{17}$
S-QGK2- C_8	$2,22 \cdot 10^{-4}$	$3,55 \cdot 10^{17}$

S-QGK2- C_2



S-QGK2- C_8



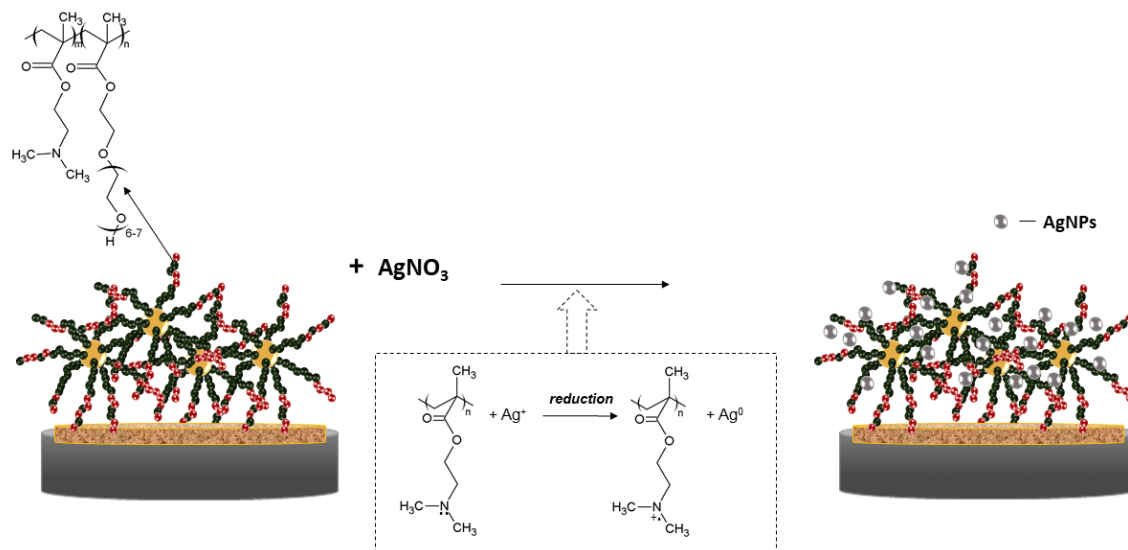
Właściwości antybakteryjne warstw kopolimerów gwieździstych

Szczep bakterii	Próbka	Liczba kolonii bakteryjnych [CFU/mL] 1 h	Zahamowanie wzrostu bakterii [%] 1 h	Liczba kolonii bakteryjnych [CFU/mL] 24 h	Zahamowanie wzrostu bakterii [%] 24 h
E. coli	S-QGK2-C ₂	1,4·10 ⁸	30	0	100
	S-GK2	2,0·10 ⁵	41	1,4·10 ⁴	95
	S-QGK2-C ₈	2,6·10 ⁴	92	6,8·10 ⁴	79
P. aeruginosa	S-QGK2-C ₂	1,85·10 ⁸	18	2,6·10 ⁸	39
	S-GK2	2,2·10 ⁵	42	0,7·10 ⁴	77
	S-QGK2-C ₈	1,7·10 ⁵	55	1,7·10 ⁴	43
B. subtilis	S-QGK2-C ₂	2,67·10 ³	11	0	100
	S-GK2	2·10 ⁴	90	3,3·10 ⁵	51
	S-QGK2-C ₈	2,2·10 ⁴	89	3,2·10 ⁵	52

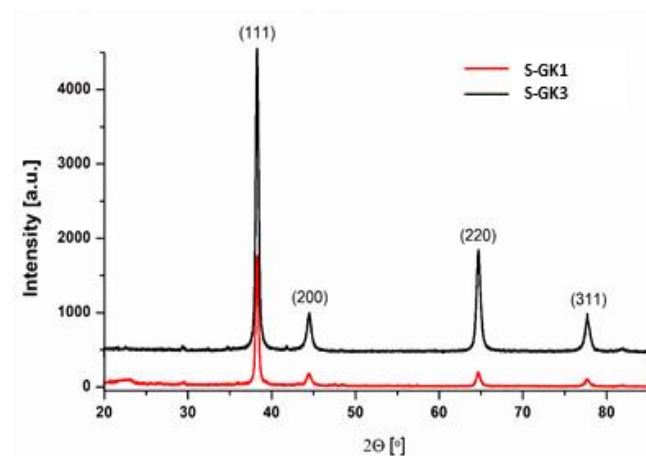
Badania wykonano w Instytucie Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w Katowicach oraz w Instytucie Mikrobiologii Bułgarskiej Akademii Nauk w Sofii

Modyfikacja warstw kopolimerów gwieździstych nanocząstkami srebra (AgNPs)

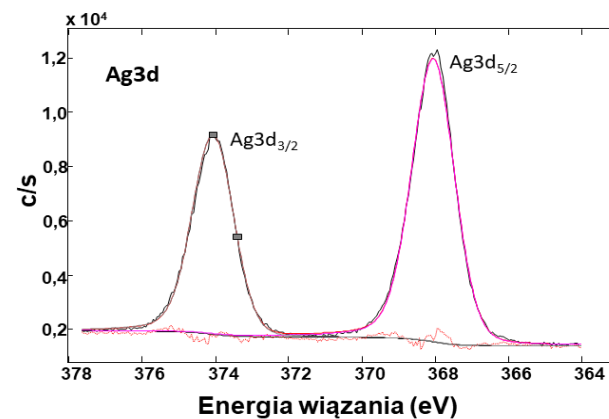
Formowanie nanocząstek srebra „in situ” w warstwach kopolimerów gwieździstych



XRD

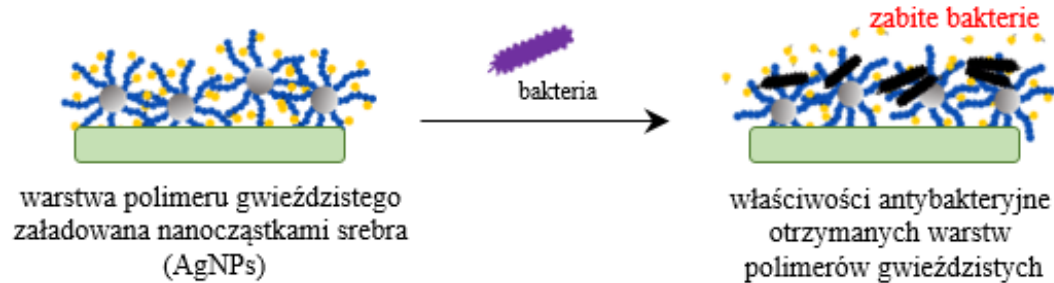


XPS



Próbka	Masa molowa szczepionego polimeru [g/mol]	Grubość „suchej” warstwy polimeru z QCM [nm]	Masa wprowadzone go srebra w warstwie polimerowej [ng/cm ²]	Rozmiary AgNPs z pomiarów XRD
S-GK1- AgNPs	130 000	7±1	5000±100	32±3 nm
S-GK3- AgNPs	340 000	34±1	8500±100	32±3 nm

Właściwości antybakteryjne warstw hybrydowych



*Badania wykonano w Instytucie Ekologii
Terenów Uprzemysłowionych w
Katowicach*

Próbka	Zahamowanie wzrostu <i>B. subtilis</i> [%] (Liczba kolonii <i>B. subtilis</i> [CFU/mL])			Zahamowanie wzrostu <i>E. coli</i> [%] (Liczba kolonii <i>E. coli</i> [CFU/mL])			Zahamowanie wzrostu <i>P. aeruginosa</i> [%] (Liczba kolonii <i>P. aeruginosa</i> [CFU/mL])		
	10 min.	1 h	24 h	10 min.	1 h	24 h	10 min.	1 h	24 h
S-GK1-AgNPs	76 ($8,80 \cdot 10^5$)	52 ($2,03 \cdot 10^3$)	100 (0)	15 ($1,80 \cdot 10^8$)	13 ($2,50 \cdot 10^8$)	100 (0)	16 ($2,31 \cdot 10^8$)	71 ($5,45 \cdot 10^7$)	100 (0)
S-GK3-AgNPs	59 ($1,51 \cdot 10^6$)	54 ($1,94 \cdot 10^3$)	100 (0)	12 ($1,87 \cdot 10^8$)	27 ($2,10 \cdot 10^8$)	100 (0)	30 ($1,94 \cdot 10^8$)	34 ($1,24 \cdot 10^8$)	100 (0)
Kontrola	($3,70 \cdot 10^6$)	($4,26 \cdot 10^3$)	($3,47 \cdot 10^3$)	($2,13 \cdot 10^8$)	($2,89 \cdot 10^8$)	($2,64 \cdot 10^8$)	($2,76 \cdot 10^8$)	($1,90 \cdot 10^8$)	($1,10 \cdot 10^8$)

Podsumowanie i wnioski

- ✓ Metodą ATRP otrzymano 28-ramienne polimery gwieździste oraz liniowe metakrylanu N,N'-dimetyloaminoetylu (PDMAEMA) oraz kopolimery gwieździste metakrylanu N,N'-dimetyloaminoetylu i metakrylanu oligo(glikolu etylenowego) (P(DMAEMA-OEGMA-OH))
- ✓ Makrocząsteczki zostały kowalencyjnie immobilizowane do podłoża stałych metodą fotochemiczną oraz chemiczną
- ✓ Obecność polimerów na podłożach stałych została potwierdzona między innymi metodami XPS i AFM
- ✓ Otrzymane warstwy modyfikowano poprzez czwartorzędowanie bromkiem etylu, a warstwy gwiazd kopolimerowych również bromkiem oktylu
- ✓ Wszystkie otrzymane warstwy wykazywały właściwości antybakteryjne. Warstwy gwieździste PDMAEMA wykazywały względem bakterii *Bacillus subtilis*, większe zahamowanie wzrostu po 24 h, niż warstwy polimerów liniowych
- ✓ Czwartorzędowanie warstw PDMAEMA poprawiało efekt biobójczy w krótkim czasie, po dłuższym czasie na ich powierzchni tworzyła się warstwa martwych bakterii powodując, że warstwy stawały się nieaktywne
- ✓ Warstwy P(DMAEMA-OEGMA-OH) czwartorzędowane bromkiem oktylu, najlepiej działały po krótkim czasie kontaktu z bakteriami, natomiast warstwy czwartorzędowane bromkiem etylu lepiej działają po dłuższym czasie kontaktu z bakteriami
- ✓ Warstwy kopolimerów gwieździstych modyfikowano nanocząstkami srebra, otrzymanymi „in situ” poprzez redukcję AgNO_3 za pomocą grup aminowych obecnych w ramionach gwiazd. Obecność nanocząstek srebra potwierdzono metodami XPS i XRD
- ✓ Warstwy modyfikowane AgNPs wykazywały najlepsze właściwości antybakteryjne po 24 h inkubacji, zabijały 100% bakterii zarówno Gram (+) jak i Gram (-)

Podziękowania

CMPW PAN:

AGNIESZKA KOWALCZUK

PAULINA TEPER

NATALIA OLESZKO-TORBUS

WSPÓŁPRACA W RAMACH BADAŃ ANTYBAKTERYJNYCH:

INSTYTUT EKOLOGII TERENÓW UPRZEMYSŁOWIONYCH W KATOWICACH:

GRAŻYNA PŁAZA

ŁUKASZ JAŁOWIECKI

JOANNA CHOJNIAK-GRONEK

INSTYTUT MIKROBIOLOGII BUŁGARSKIEJ AKADEMII NAUK W SOFII:

ANNA SOTIROVA

TSVETALINA PAUNOVA- KRASTEVA

Prace były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki z grantu SONATA nr UMO-2017/26/D/ST5/00062

Dziękuję za uwagę 😊