

Invenția se referă la medicină, în special la un material polimeric cu proprietăți antimicrobiene pe bază de poli(acrilamidă) impregnată cu enotanimuri hidrosolubile.

Cea mai apropiată soluție de obiectul revendicat este crema pe bază de substanța biologic activă de origine naturală – Enoxil, utilizată în calitate de remediu antimicrobian [1].

Dezavantajul creimei constă în faptul că ea nu manifestă proprietăți antimicrobiene suficient de înalte pentru tratarea afecțiunilor, fiind adesea și incomodă în aplicare pe suprafața cutanată.

Problema soluționată de invenție constă în sporirea proprietăților antimicrobiene și comoditatea din punct de vedere al utilizării medicale.

Esența invenției constă în aceea că se revendică un material polimeric cu proprietăți antimicrobiene, care constă din poli(acrilamidă) impregnată cu enotanimuri hidrosolubile cu concentrația de 2,5%, totodată enotanimurile hidrosolubile sunt obținute prin modificarea chimică a enotanimurilor cu peroxid de hidrogen.

Avantajul poli(acrilamidei) elaborate și impregnate cu enotanimuri hidrosolubile cu concentrația de 2,5% (Enoxil) constă în aceea că forma nouă medicamentoasă posedă proprietăți antimicrobiene sporite și este mai comodă de aplicat pe suprafața cutanată în comparație cu celelalte forme medicamentoase pe bază de taninuri hidrosolubilizate chimic cu peroxid de hidrogen.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea activității antimicrobiene de 1,57...1,86 ori față de bacterii și de 1,76 ori față de specia de fungi-drojdie *Candida utilis*.

Exemplu de realizare a invenției

La sinteza poli(acrilamidei) (PAA) sunt utilizate: acrilamida C_3H_5NO (99,5%, Fluka), N,N'-metilen-bis-acrilamida $C_7H_{10}N_2O_2$ (99,0%, Fluka), persulfatul de amoniu $(NH_4)_2S_2O_8$ (98,0%, Fluka), N,N,N',N'-tetrametiletildiamina $C_6H_{16}N_2$ (99,0%, Fluka), metil celuloza și soluția apoasă de glucoză. Detaliat, sinteza PAA pentru aplicări biomedicale este descrisă în brevetul UA 64849. Copolimerizarea acrilamidei cu agentul de reticulare este realizată într-o soluție izotonică în prezența persulfatului de amoniu la 35°C timp de 2 ore. Apoi, polimerul obținut se spală bine cu o soluție izotonică la o temperatură de 35...40°C pentru îndepărtarea monomerilor reziduali.

Pentru prepararea sistemului PAA-Enoxil, poli(acrilamida) uscată (sub forma unui disc de 40 mm în diametru) se plasează într-un pahar de sticlă (600...800 ml) cu 500 ml de soluție Enoxil de 2,5% în apă distilată. Se utilizează 500 ml de soluție pentru ca concentrația acesteia să nu se micșoreze esențial după impregnarea Enoxilului în matricea de PAA. Umflarea PAA și impregnarea Enoxilului în soluție se efectuează timp de 20 ore la o temperatură de 26...28 °C. Ca rezultat, se formează un disc moale de hidrogel transparent PAA de culoare oranj saturat cu soluție de Enoxil. Proba de control PAA la umflarea în apă distilată formează un hidrogel incolor transparent.

Invenția se explică prin desenele din fig. 1-2, care reprezintă:

- fig. 1, aspectul mostrelor: a - PAA uscat inițial (1), hidrogelurile PAA menținute în apă (2) și soluție apoasă de Enoxil (3); b - PAA-Enoxil uscat (1) și PAA uscat (2) după îndepărtarea apei din hidrogel prin uscare în aer liber;
- fig. 2, spectrele 1H RMN ale gelurilor PAA saturate cu Enoxil la diferite temperaturi: în aer (a), în mediu de $CDCl_3$ după menținere timp de 60 min (b) și în mediu de $CDCl_3$ cu un adaos de 15% TFA (c).

Diametrul discului PAA impregnat cu Enoxil crește până la 85 mm (Fig. 1a). În același timp, masa discului de PAA impregnat cu Enoxil se mărește de circa 14 ori (creșterea masei probei a constituit $14,0 \pm 0,5$ g per 1 g PAA inițial). Uscarea hidrogelului se efectuează timp de 6 zile la temperatura camerei. Proba PAA-Enoxil, obținută într-o soluție apoasă 2,5% de Enoxil se încălzește în continuare într-un cuptor de uscare la 30 °C timp de 4 ore. După îndepărtarea apei din hidrogel, discurile PAA recapătă dimensiunea sa inițială (Fig. 1b). Ca urmare a acestei proceduri, se obține preparatul complex PAA-Enoxil de culoare roșu-brun.

Unul din scopurile principale ale invenției este dirijarea desorbției substanței biologice active Enoxil din matricea PAA. Pentru aceasta, au fost realizate cercetări vizând influența solvenților cloroform cu izotopul deuteriu ($CDCl_3$) și a acidului trifluoracetic (TFA) asupra legăturilor chimice între preparatul Enoxil și matricea PAA.

Saturarea gelului cu Enoxil a condus la reducerea semnalului grupurilor de protoni ale polimerului în probe complet dezghețate (Fig. 2 a-c). În mediul de $CDCl_3$ s-a micșorat intervalul de temperaturi în care se observă semnalul apei neînghețate (Fig. 2b). Acest fapt denotă procesul mai eficient de difuzie a cloroformului în proba încărcată cu Enoxil. În prezența TFA, semnalul clusterelor de apă care dizolvă slab acidul are o intensitate maximă în intervalul temperaturilor înalte (Fig. 2c).

Saturarea în prealabil a PAA cu Enoxil conduce la diminuarea cantității de apă legată puternic și a valorii energiei interfazice (tabelul 1). Probabil, acest fenomen este condiționat de formarea aducțiilor între structurile moleculare ale Enoxilului și lanțurile polimerice ale PAA. Despre eficacitatea acestui tip de interacțiuni moleculare, se poate concluziona în baza diferenței între valorile energiei interfazice. În acest caz, în aer interacțiunea Enoxil-PAA constituie 6,7 J/g, în mediu $CDCl_3$ - 9,4 J/g, și mediu $CDCl_3$ + TFA - 2,2 J/g. Totodată, se produce o schimbare semnificativă a formei distribuțiilor în baza razelor clusterelor apei absorbite, ceea ce indică prezența unei influențe puternice a compoziției mediului care formează faza lichidă a gelului asupra amplasării relative a lanțurilor polimerice care au absorbit Enoxil.

Tabelul 1. Caracteristicile straturilor de apă neînghețată în gelul poliacrilamidic inițial și saturat cu Enoxil, conținând 500 mg/g H₂O

Mostră	Mediu	C _{uw} ^S (mg/g)	C _{uw} ^W (mg/g)	ΔG ^S (kJ/mol)	δ _s (J/g)
PAA	Aer	160	340	-3	17,9
	CDCl ₃ 20 m	175	325	-3	19,6
	CDCl ₃ 60 m	180	320	-3	20,7
	CDCl ₃ +TFAA	240	260	-2,75	16,6
PAA+Enoxil	Aer	120	380	-3	11,2
	CDCl ₃ 60 m	90	410	-3	10,2
	CDCl ₃ +TFAA	180	320	-3	14,0

Exemplu

Testarea activității antimicrobiene a poliacrilamidei impregnate cu Enoxil

În acest scop se aplică metoda difuziei în agar. Agarul dizolvat în apă distilată se încălzește până la fierbere și se toarnă în cutii Petri pentru solidificare. Se pregătesc culturi de 24 ore de bacterii și fungi. În calitate de bacterii se selectează tulpinile nepatogene de *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, în calitate de fungi-drojdie se utilizează tulpina de *Candida utilis*. Se prepară inițial soluții ale culturilor de microorganisme cu densitățile optice de 2,0 pentru bacterii și 7,0 pentru fungi în conformitate cu indicele McFarland. Ulterior, se efectuează diluții ale culturilor de microorganisme, până la concentrația de 10⁻⁵ pentru bacterii și 10⁻⁶ pentru fungi. Se efectuează godeuri în agarul uscat cu diametrul de 8,0 mm, folosind o baghetă sterilă. Câte 0,1 ml de soluție de microorganisme (doza de însămânțare) se plasează pe cutii și cu o spatulă sterilă se repartizează pe toată suprafața agarului din cutie. Ulterior, câte 0,1 g de cremă se introduc în godeuri. Paralel în alte cutii se plasează discuri de poliacrilamidă impregnate cu Enoxil de 2,5%. Cutiile însămânțate se plasează în termostat la temperatura de 35°C pentru bacterii și 25 °C pentru fungi-drojdie.

Rezultatele se evaluează în baza măsurării diametrelor de inhibiție a creșterii microorganismelor în jurul godeurilor cu cremă și a inelelor de poliacrilamidă. Citirea rezultatelor se efectuează peste 24 ore pentru bacterii și 48 ore pentru specia de fungi-drojdie. Cercetările efectuate repetat prin hidrosolubilizarea gelului de PAA cu Enoxil demonstrează că proprietățile microbiologice ale noului produs farmaceutic se reproduc și că acestea sunt stabile pe durata a 3 ani.

Tabelul 2. Activitatea antimicrobiană a cremei cu Enoxil (soluția cea mai apropiată) și poliacrilamidei cu Enoxil (invenția)

Produs	Diametrul zonei de inhibiție, mm			
	<i>B.subtilis</i>	<i>B.cereus</i>	<i>Ps.aeruginosa</i>	<i>C.utilis</i>
Cremă cu Enoxil 2,5%	14,0±0,1	12,0±0,2	13,0±0,2	10,5±0,1
Poliacrilamidă cu Enoxil 2,5% (inițial)	22,5±0,2	20,7±0,1	25±0,3	19,3±0,2
Poliacrilamidă cu Enoxil 2,5% (peste 3 ani)	22,0±0,2	20,0±0,3	24,33±0,2	18,5±0,1

Conform datelor din tabelul 2 se observă că sporul activității antimicrobiene a poliacrilamidei cu Enoxil în raport cu soluția cea mai apropiată este de 1,57...1,87 ori față de speciile de bacterii *B.subtilis*, *B.cereus* și *Ps.aeruginosa*, respectiv și de 1,76 ori față de specia de fungi-drojdie *C.utilis*.