



FOGORVOSI SZEMLE

Stomatologia Hungarica

100. évf. 3. sz.
2007. június



Debreceni Egyetem, Orvos és Egészségtudományi Centrum Fogorvostudományi Kar, Fogpótlástani Tanszék*
 Konzerváló Fogászati Tanszék**
 Debreceni Egyetem, Kolloid- és Környezet Kémiai Tanszék***

Fogászatban alkalmazható hatóanyagok leadására alkalmas nanorészecskék szintézise

BAKÓ JÓZSEF*, DR. SZEPESI MÁRTA*, DR. MÁRTON ILDIKÓ**, DR. BORBÉLY JÁNOS***, DR. HEGEDŰS CSABA*

A korszerű hatóanyag-leadó rendszereket egyre szélesebb körben alkalmazzák, mert ezen eszközök lehetőséget biztosíthatnak pl. a gyógyszerek célzott és szabályozott alkalmazásához. Mindeddig a fogászati gyakorlatban megjelent anyagok – a polimer alapú gélek – szerkezetükkel befolyásolták a kioldódást. A közelmúltban viszont egyre intenzívebb kutatások folytak egyéb módszerek alkalmazására is. Ezek közé tartozik a nanotechnológia is, melyet napjaink egyik legdinamikusabban fejlődő tudományágaként tartanak számon.

Jelen munka célja olyan biokompatibilis nanorészecske előállításának a bemutatása, amely a fogászatban is alkalmazható hatóanyag-leadó rendszer alapjául szolgálhat.

A polimer-bázisú nanorészecskék előállítása micelláris polimerizációval történt, melynek révén a szerzők vízben jól diszpergálható fehér, porszerű anyagot kaptak. A részecskék méretét dinamikus lézer fényszórás fotometriás (DLS) és pásztázó elektronmikroszkópos módszerrel (SEM) vizsgálták. A SEM felvétel szerint a részecskék 50–180 nm-es mérettartományba esnek. Ezzel összevethető a DLS mérések alapján kapott eredmény, mely szerint két mérettartományba eső részecskék alkotják az anyag összességét, az egyik csoport 40 ± 15 nm mérettel, míg a másik 180 ± 30 nm mérettartományal jellemezhető.

Eredményeik azt támasztják alá, hogy sikerült olyan nanorendszert előállítani, mely a további kísérleteikben alapját képezhetik egy új hatóanyag-leadó eszköz fejlesztésének.

Kulcsszavak: nanorészecske, hidrogél, nanokompozit, hatóanyag-leadó rendszer

Bevezetés

A nanotechnológia egyike a napjainkban legdinamikusabban fejlődő tudományterületeknek. Nanorészecskének nevezik azokat az objektumokat (gömbök, szálak, lapok, csövecskék), amelyek mérete legalább az egyik dimenzióban nem haladja meg a 100 nm-t. Nanorészecskéket magukban foglaló anyagokat pedig nanorendszereknek, nanokompozitoknak nevezik [1].

Az élet számos területén ismerhetünk már alkalmazásokat is, melyek felhasználják eredményeit az optikában, az informatikában, az anyagtudományban, de egyre több helyen kezdik vizsgálni alkalmazását a fogászatban is. A kompozitok – mint ma is alkalmazott fogászati tömőanyagok – területén már a kereskedelemben is megjelentek a nanotechnológia legújabb eredményei, s rendkívül nagy sikerrel alkalmaznak nanoméretű töltőanyagot tartalmazó termékeket [11, 12]. Ezzel párhuzamosan fejlődtek ki a kémia területén a nanorendszerek előállítását célzó egyéb eljárások, melyek során konvencionálisan alkalmazott monomerek

nanorészecskékké alakíthatóak, különböző polimerizációs reakciókkal, illetve átalakításokkal. Ilyenek például az előre kialakított polimerek diszperziója, az oldószer-elpárolgatás módszere, a spontán emulgeálás vagy oldószer diffúziós eljárás, a kisózás, a szuperkritikus folyadék technológia, vagy akár a közvetlen polimerizáció [15]. Ezen eljárásokból fakadó sokszínűség nyújt lehetőséget a polimerek széles körű felhasználására. Ilyen felhasználás lehet a hatóanyag-leadó rendszerek fejlesztése is, ami ma is intenzíven kutatott terület, s ahol a nanotechnológiának rendkívüli szerepe lehet [9]. A parodontológia és a szájszészet területén is ismertek, és alkalmazottak már egyes polimer bázisú gyógyszerleadó rendszerek, ilyen pl. az Atrisorb, a PerioChip vagy a PerioFilm, de ezen rendszereknél még a polimer szerkezete a fő befolyásoló tényezője a kioldódásnak. E rendszerek új alternatíváját képezheti egy olyan nanokompozit struktúra, ahol a polimer mátrixban szétosztatott nanorészecskék segítségével lehetne tovább szabályozni a kioldódást. A kompozit feltételezett működési sémáját az 1. ábra

szemlélteti. A kioldódást ebben az esetben a mátrix és nanorész együttes kioldódási tulajdonságai alakítják ki úgy, hogy a kompaktabb nanorészből történő lassú hatóanyag-felszabadulás biztosíthatja a gyógyszer jelenlétét a mátrixból történő gyorsabb kioldódást követően is. A nanoméretű részecskék alkalmazása számos előnnyel járhat, pl. gyógyszerek esetében jelentősen megnövelheti azok biológiai hatásosságát. A nanorész-



1. ábra. Nankompozit hidrogél modellje.

- 1) nanorészecskéből történő hatóanyag felszabadulás (lassú);
2) a mátrix hidrogélből történő kioldódás (gyors)

szecskék esetében az adott térfogatelemben vagy tömegegységben lévő felület jelentősen megnövelhető a hagyományos anyagokhoz képest, így a transzportfolyamatok szabályozására nagyobb lehetőség nyílik. Amennyiben koherens rendszerben – pl. hidrogél – nanorészecskéket diszpergálunk, akkor a gél-mátrix adta szabályozási, kibocsátási lehetőségen túl, a beépített nagy felületű nanoanyag révén a transzportfolyamatok további módosítására nyílik lehetőség. Jelen munkánk célja olyan nanorészecske előállításának bemutatása, mely a jövőben alapját képezheti kombinált, a fogászatban is alkalmazható hatóanyag-leadó rendszer fejlesztésének.

Anyag és módszer

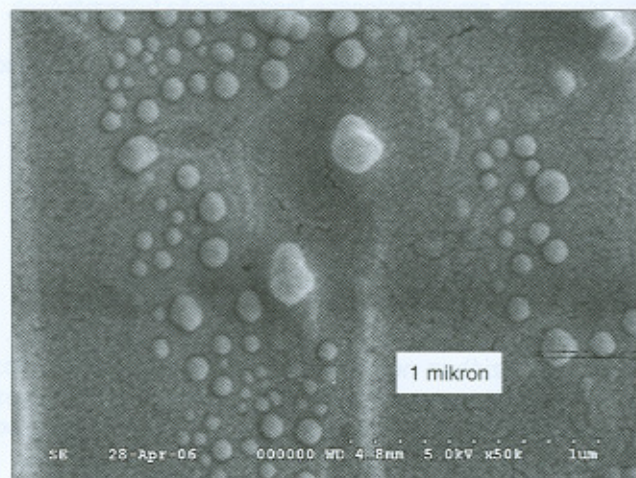
A nanorészecskék előállítása nitrogén atmoszféra alatt, folyamatos keverés mellett, micelláris polimerizáció útján történt. A szerves fázist 2-hidroxi-etil-metakrilát (97%-os, Sigma-Aldrich, Steinheim) (HEMA) monomer, poli-(etilén-glikol)-dimetakrilát (Mn:550, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (PEG-DMA) térhálósító, illetve n-butil-alkohol (Spektrum 3D Kft) alkotta. A vizes fázist nátrium-dodecil-szulfát (Spektrum 3D Kft) (SDS) 2,4%-os oldatában, kálium-peroxid-diszulfát (98%, Reanal Co., Budapest) (KPS), mint termoiniciátor felhasználásával, N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin (99%-os, Sigma-Aldrich, Steinheim) (TEMED) katalizátor segítségével állítottuk elő. A teljes elegyre vonatkoztatott monomerkoncentráció 4%. A reakció dupla falú lombikban, 60 °C-os közegben ment végbe. Ezt követően jeges fürdő segítségével fagyasztottuk be a polimerizációt. A kapott reakcióelegyet 4 napig dializáltuk, majd liofilizáltuk CHRIST ALPHA 1-2 készüléken -50 °C-on. Az eljárás

eredményeként fehér színű, por formájú anyagot kaptunk.

A nanorészecskék méretét fényszórás fotometria (BI-200SM Brookhaven Research Laser Light Scattering fotométer, NbYAg szilárd fázisú lézerrel) (DLS), és pásztázó-elektronmikroszkóp (HITACHI S4300 CFE, Tokyo) (SEM) segítségével határoztuk meg. DLS segítségével a hidrodinamikai átmérő meghatározása (H_D), a részecske méreteloszlás (RME) és a polidiszperzitási együttható (PDI) adható meg. Az alkalmazott hullámhossz $\lambda_0=532$ nm. Méréseinket 25 °C-on 90°-os detektálási szög mellett, optikailag homogén henger alakú kvarc küvetában végeztük. A mintavétel közvetlenül a dialízist követően történt, s a polimer koncentrációja 100 µg/ml volt. A SEM vizsgálatok előkészítésekor a minta egymást követően kétszer 30 másodpercig 10^{-2} mPa nyomás alatt volt, 18-20 mA plazma áram mellett, így létrehozva az arany bevonatot a felszínén. A mérés során az alkalmazott gyorsítófeszültség 5 kV volt.

Eredmények

A HEMA mint egyfunkciós és PEGDMA mint kétfunkciós monomerek micelláris polimerizációjának elvi vázlata a 2. ábrán látható. A reakció 60 °C-on Na-dodecil-szulfát tenzid vizes oldatában, TEMED katalizátor



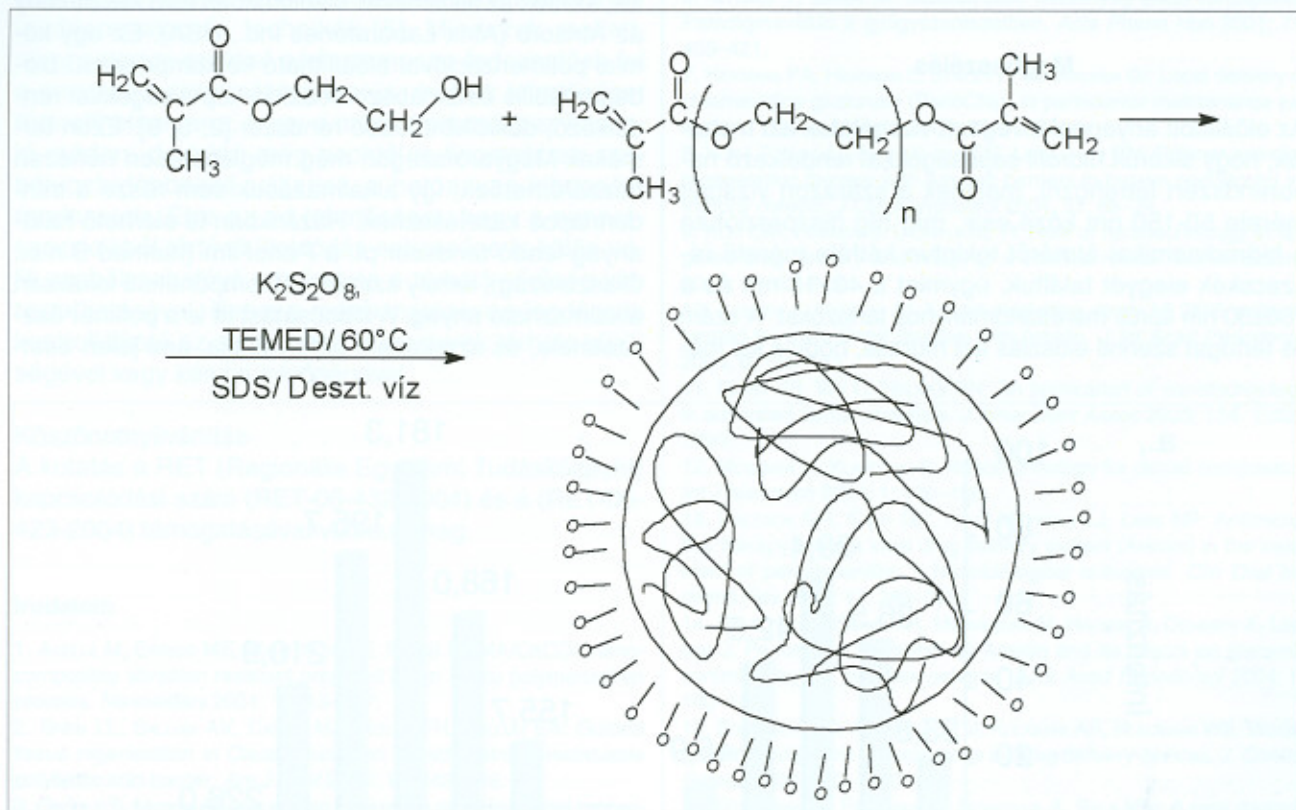
1. kép. Pásztázó elektronmikroszkóp felvétel (SEM) a 2-hidroxi-etil-metakrilát (HEMA) és poli-(etilén-glikol)-dimetakrilát (PEGDMA) 50%-50% összetételű nanorészecskékről.

A kép 1 µm-es léptékkel, 50 000-szeres nagyítással ábrázolja a részecskéket

segítségével, $K_2S_2O_8$ iniciátor hatására ment végbe. A reakció dupla falú lombikban játszódott le, mely sematikusan a 3. ábrán látható. Kezdetben a szerves fázisban helyet foglaló egy- és kétfunkciós monomerek az SDS alkotta micellákban vannak. A KPS hatására elindul a polimerizációs reakció a reaktív – kettős kötést – tartalmazó csoportok száma csökken, s ezzel

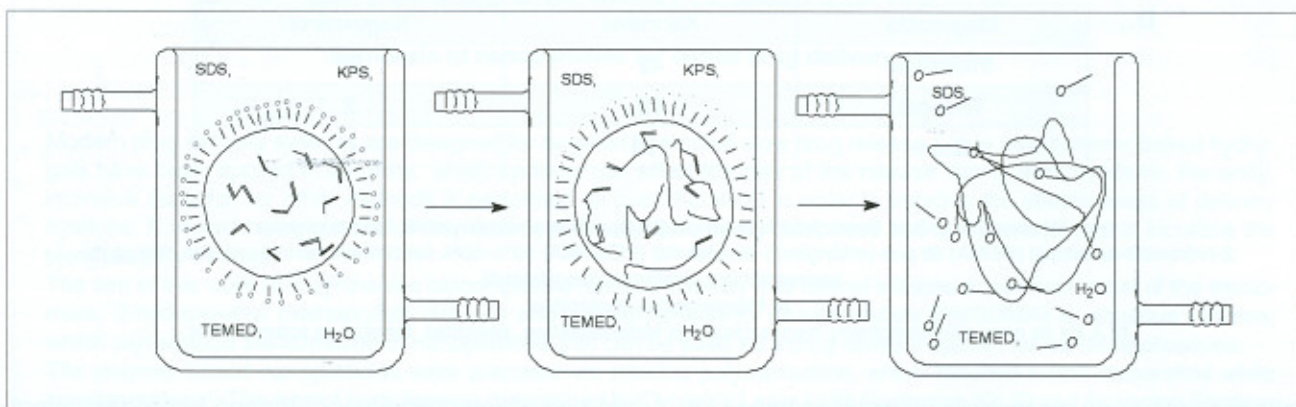
párhuzamosan alakulnak ki a „polimerszálak”. A reakció addig tart, amíg az összes kettős kötés el nem reagál, s ki nem alakul a micella mérettartományába eső polimer, melyet tisztítva, liofilizálva használhatunk fel.

jól látható, hogy a kis gömb alakú képződmények a nano- mérettartományhoz tartozó 50–180 nm közötti mérettel rendelkeznek. Az 4. ábrán látható DLS eredmények azt mutatják, hogy a nanorészecskék hidrodina-



2. ábra. Micelláris polymerizáció elvi vázlata.

Monomerek 2-hidroxietyl-metakrilát (HEMA) és poli-(etilénglikol)-dimetakrilát (PEGDMA), Na-dodecil-szulfát (SDS), mint tenzid oldatában, TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin) katalizátor, és $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ iniciátor alkalmazásával 60°C -on lejártszódó reakció esetében.



3. ábra. Micelláris polymerizáció lefolyásának sématis ábrája.

SDS (natrium-dodecil-szulfát), oldatban KPS (kálium-peroxid-diszulfát) iniciátor jelenlétében, TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin) katalizátor segítségével lejártszódó reakció jellemző állomásai. Először csak monomerek vannak jelen a micellában, majd a KPS hatására elinduló polymerizáció következtében összekapcsolódnak az anyagok, s végül a reakció végére elreagál az összes aktív csoport, s leáll a folyamat.

Az 50% HEMA és 50% PEGDMA felhasználásával készült nanorészecskék vizsgálatának az eredményeként, az 50000-szeres nagyítású SEM felvételen (1. kép)

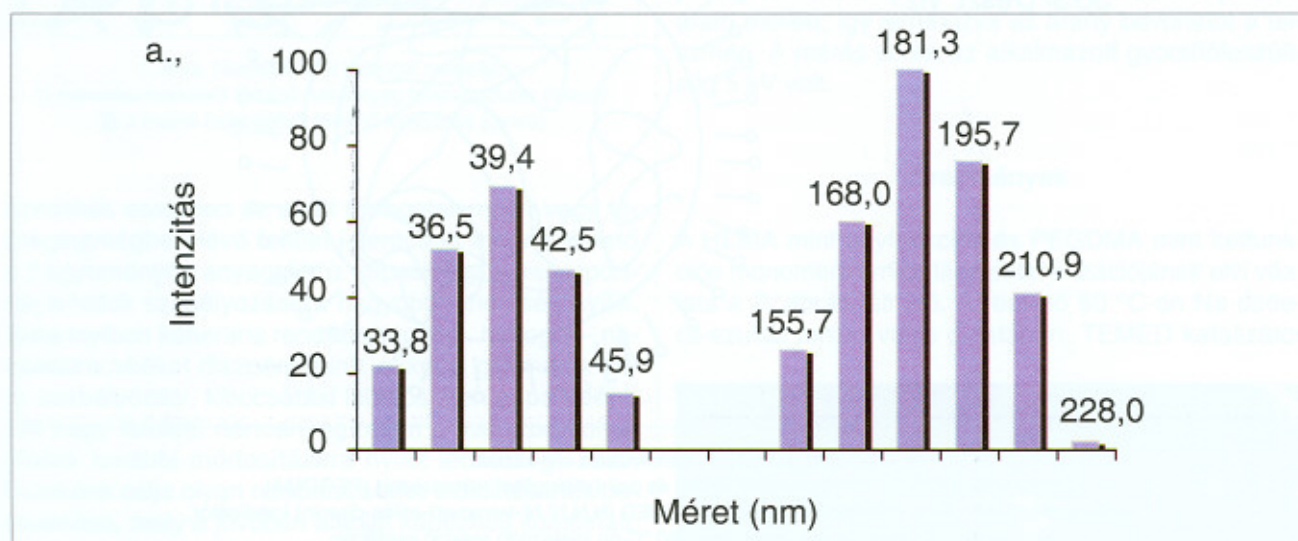
mikrai átmérője két jól definiálható mérettartományba esik. Ezek a mérettartományok a 40 ± 15 nm és a 180 ± 30 nm. Mindamellett a részecskék szám és térfogat

szerinti eloszlásából kiolvasható, hogy a kis mérettartományba eső részecskék szám szerinti és térfogat szerinti aránya jelentősen meghaladja a nagyobb méretű részecskéét.

Megbeszélés

Az előállított anyaggal elvégzett vizsgálatok azt mutatják, hogy sikerült hidrophil sajátságokkal rendelkező nanorendszert létrehozni, melynek a szárazon vizsgált mérete 50-150 nm közé esik, míg híg diszperzióban a hidrodinamikai átmérőt tekintve kétféle méretű részecskék elegyét találtuk, úgymint a 40 ± 15 nm és a 180 ± 30 nm körüli mérettartományhoz tartozókat. A szám és térfogat szerinti eloszlás azt mutatja, hogy a kis mé-

cel Pharma, Izrael), amely egy hidrophil jellegű, biodegradálható, előre polimerizált és csomagolt anyag, melynek hatóanyaga a klórhexidin-diglükonát, s fogak melletti kisebb tasakok kezelésére alkalmas [7]. Egy másik, szintén az alkalmazás stádiumában lévő készítmény az Atrisorb (Atrix Laboratories Inc., USA). Ez egy kémiai polimerizációval előállítható kétkomponensű biodegradálható és bioabszorbeálódó képességekkel rendelkező, doxiciklint leadó rendszer [2, 3, 8]. Ezen termékek Magyarországon még meglehetősen nehezen hozzáférhetőek, így alkalmazásuk sem része a mindennapos kezeléseknak. Hazánkban is elérhető hatóanyag-leadó rendszer pl. a PerioFilm (Italmed S.n.c., Olaszország), amely szintén kétkomponensű lokálisan alkalmazható anyag. A kibocsátást itt is a polimer összetétele, és szerkezete befolyásolja, ami jelen eset-



b.,

Megoszlás	Kis méret	Nagy méret
Intenzitás	42	58
Térfogat	98	2
Szám	100	0

4. ábra. Dinamikus fényszórás fotometriás (DLS) mérés eredményeinek összefoglalása 2-hidroxietil-metakrilát (HEMA) és poli-(etilén-glikol)-dimetakrilát (PEGDMA) 50%-50% összetételű nanorészecske 100 µg/ml koncentrációjú oldatának vizsgálatából.

a) Méreteloszlás ábrázolása

b) A kis és nagy mérettartomány megoszlása a jel kialakulásában, intenzitás, térfogat és szám szerint

rettartományba eső részecskék nagyobb számban keletkeznek. Az általunk szintetizált nanorészecskék tehát megfelelő eszközök lehetnek egy új alternatív hatóanyag-szállító és -leadó rendszer fejlesztéséhez.

Különböző hatóanyag-szállító és -leadó rendszerek már ma is léteznek, de azok elvükben különböznek az általunk előállítani kívánt anyagtól. Már az 1980-as évek elején elkezdtek kutatni a klórhexidin elnyújtott leadására képes polimer rendszereket [5, 16]. Ezen kutatások eredményeképp jött létre a PerioChip (Dex-

ben egy vékony filmrétegből történő kioldódást jelent [4]. Az Arestin (Oral Pharma Inc., USA) minociklin leadására képes anyag, mely rendszernél már felfedezhetjük, hogy a hatóanyag szabályozott leadását nemcsak a mátrix, hanem egy másik anyag segítségével is igyekeznek jobban kontrollálhatóbbá tenni. Ebben az esetben mikrogömböket alkalmaznak, mely a tömőanyagok esetében már megismert méreteloszláshoz hasonlóan, a makro és a nanoanyagok között helyezkedik el [10, 13, 14]. A szabályozott hatóanyag-leadás

ezen kívüli alternatív módjait több helyen és módon is vizsgálják, több elképzelés és kísérlet van, mint például a hőmérséklet vagy a mágneses mező által vezérelt polimer rendszerek, önszerveződő rendszerek, vagy a kémiai környezet által szabályozott hatóanyag-leadáson alapuló technikák [6]. Mindezek mellett, vagy sokszor ezekkel párhuzamosan fedezhetőek fel a nanorendszerek vizsgálatai is, melyek lehetőséget biztosíthatnak arra, hogy a mikroszemcsékhez hasonló módon, de talán még azoktól is finomabban szabályozhatóbbakká váljanak a hatóanyag-kibocsátó rendszerek. Erre az ad lehetőséget, hogy a nanorészecskékből történő kioldódás sebessége is külön válik szabályozhatóvá a méret és a térháló-sűrűség változtatásával, illetve a mátrix hatóanyag-leadása is kontrollálható az azt felépítő monomerek térháló-sűrűségével vagy kémiai minőségével.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a RET (Regionális Egyetemi Tudásközpont) kapcsolódási szám (RET-06-432-2004) és a (RET-06-423-2004) támogatásával valósult meg.

Irodalom

1. AVELLA M, ERRICO ME, MARTUSCELLI E: Novel PMMA/CaCO₃ nanocomposites abrasion resistant prepared by an in situ polymerization process. *Nanoletters* 2001; 1: 213–217.
2. BREM LL, SALLUM AV, CASATI MZ, NOCITI FH, SALLUM EA: Guided tissue regeneration in Class II furcation defects using a resorbable polylactic acid barrier. *Am J Dent* 2004; 17: 443–446.
3. CHOGLE S, MICKEL AK: An in vitro evaluation of antibacterial properties of barriers used in guided tissue regeneration. *J Endodont* 2003; 29:1–3.
4. CINKÓCZKY B, HERMANN P, GERLE J: Periofilm-lokális antibiotikum alkalmazása az implantológiai gyakorlatban. *Magyar Fogorvos* 2005; 4: 202–204.
5. FRIEDMAN M, GOLOMB G: New sustained released dosage form of chlorhexidine for dental use. *J Periodontol Research* 1982; 17: 323–328.
6. GYENES T, ZRINYI M: Szabályozott hatóanyag-leadó rendszerek. Paradigmaváltás a gyógyszerészetben. *Acta Pharm Hun* 2001; 71: 405–421.
7. HEASMAN PA, HEASMAN L, STACEY F, MCCracken GI: Local delivery of chlorhexidine gluconate (PerioChip) in periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 90–95.
8. HOU LT, YAN JJ, TSAI AY, LAO CS, LIN SJ, LIU CM: Polymer-assisted regeneration therapy with Atrisorb barriers in human periodontal intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 68–74.
9. KOO OM, RUBINSTEIN I, ONYUKSEL H: Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine* 2005; 1: 193–219.
10. LESSON J, HANLON A: A post-marketing study of 2805 patients treated for periodontal disease with Arestin. *J Int Acad Periodontol* 2004; 6: 150–153.
11. MITRA SB, WU D, HOLMES BN: An application of nanotechnology in advanced dental materials. *J Amer Dent Assoc* 2003; 134: 1382–1390.
12. MOSZNER N, KLAPDOHR S: Nanotechnology for dental composites. *Int J Nanotech* 2004; 1: 130–156.
13. PRESSON GR, SALVI GE, HEITZ-MAYFIELD LJ, LANG NP: Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in the treatment of peri-implantitis. I: Microbiological outcomes. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17: 386–393.
14. SKKALERIC U, SCHARA R, MEDVESCEK M, HALNON A, DOHERTY F, LESSEM J: Periodontal treatment by Arestin and its effects on glycemic control in type 1 diabetes patients. *J Int Acad Periodontol* 2004; 6: 160–165.
15. SOPPIMATH KS, AMINABHAVI TM, KULKARNI AR, RUDZINSKI WE: Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Control Release* 2001; 70: 1–20.
16. STEINBERG D, FRIEDMAN M, SOSKOLNE A, SELA MN: A new degradable controlled release device for treatment of periodontal disease: in vitro release study. *J Periodontol* 1990; 61: 393–398.

BAKÓ J, DR. SZEPESI M, DR. MÁRTON I, DR. BORBÉLY J, DR. HEGEDŰS Cs:

Synthesis of nanoparticles for dental drug delivery systems

Modern drug delivery systems are designed for targeted controlled slow drug release. Up to now polymer based hydrogels have been applied in dentistry, which systems can affect the rate of the release due to their structure. Recently, intensive research for other methods is performed all over the world in order to improve the effectiveness of delivery systems. Nanotechnology is one of the most dynamically developing disciplines and is a powerful tool to increase the bioavailability of drugs.

The aim of this work is to synthesise biocompatible nanoparticles by free radical initiated copolymerization of the monomers, 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and polyethyleneglycol dimethacrylate (PEGDMA) in aqueous solution, which can support the formation of nanoparticles that can be used as a drug delivery system for dental applications.

The polymer-based nanoparticles were prepared via micellar polymerisation, which resulted a well dispersible white powder material. The size of particles was determined by Dynamic Laser Light Scattering (DLS) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The size of particles is in range of 50–180 nm, measured by SEM. These values are commensurable with the results obtained by DLS experiments, where two size ranges were observed, as 40±15 nm and 180±30 nm.

The nanoparticles are suitable for incorporation into a hydrogel matrix and to design new drug delivery devices for dental applications.

Key words: nanoparticle, hydrogel, nanocomposite, drug delivery system