

Vorstudie - Chitodent

Dr. Simone Geyer & PD. Dr. Luise Berthe-Corti

Institut für Chemie und Biologie des Meeres, AK Biotechnologie, Carl von Ossietzky
Universität Oldenburg, 26111 Oldenburg
im Auftrag von Herrn Dipl. Ing. Helmuth Focken Biotechnik

Zusammenfassung

Die Zahnpasta Chitodent enthält als eine Hauptkomponente Chitosan. Chitosan ist ein biologisches Polymer, das durch Deacetylierung aus Chitin gewonnen wird. Der Begriff Chitosan umfasst eine Vielzahl von Derivaten, die sich hinsichtlich ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften unterscheiden. Je nach Kettenlänge des Polymers unterscheidet man zwischen nieder- und hochmolekularem Chitosan (MG 10. 000 bis ca. 2.000.000 D). Der Deacetylierungsgrad von Chitosan beschreibt den Anteil an freien und reaktiven Amino-gruppen im Polymer und kann variieren. Neben Molekulargewicht und Deacetylierungsgrad beeinflussen die Umgebungsbedingungen (z. B. pH-Wert, Temperatur) die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Chitosan wie z.B. die Viskosität.

Für verschiedenste Chitosan-Derivate wurden für die Zahnmedizin interessante Eigenschaften nachgewiesen:

- Chitosan-Derivate besitzen antibakterielle Eigenschaften, was an Erregern, die Plaque, Karies und Parodontitis hervorrufen, nachgewiesen wurde.
- Chitosan wirkt hauptsächlich an der äußeren Abgrenzung der Bakterien, wobei die Ladungsverteilung auf der Zelloberfläche eine große Rolle spielt.
- Weiterhin wurde gezeigt, das Chitosan einen stimulierenden Effekt auf die Wundheilung z. B. im Mundhöhlenbereich haben kann.
- Chitosan eignet sich als Hüllmaterial für die Herstellung von Zahnimplantaten.
- Zusätzlich sind für Chitosan-Derivate Schwermetall-bindende Eigenschaften nachgewiesen worden. Im Bereich der Zahnmedizin ist besonders die Bindung von freierwerdendem Quecksilber von großem Interesse.

Die folgende Literaturrecherche gibt den Forschungsstand wieder.

Eigenschaften von Chitin und Chitosan

Chitosan ist ein Biopolymer, mit einem breiten Anwendungsspektrum in verschiedenen Bereichen der Industrie, Medizin und Kosmetik. Wegen der physikalisch-chemischen Eigenschaften, günstigen Herstellungskosten und des biologischen Ursprungs ist Chitosan Mittelpunkt vieler anwendungsorientierter Untersuchungen. Chitosan wird kommerziell aus Chitin - häufig aus dem Exoskelett von Crustaceen oder aus Cephalopoden - durch Deacetylierung (Entfernung der N-Acetylgruppen) gewonnen und besitzt dadurch reaktive Aminogruppen (Schanzenbach, 2000). Chitosan ist ein lineares Polysaccharid, in dem N-Acetyl-D-Glucosamin mit D-Glucosamin 1,4- β -glycosidisch verbunden sind (Illum, 1998). Der Begriff Chitosan umfasst eine Serie von Chitosan-Derivaten, die sich in folgenden Eigenschaften unterscheiden:

- Molekulargewicht¹ (10.000 - 2.000.000 Da) (Illum, 1998; Schanzenbach, 2000)
- Deacetylierungsgrad (40 - 98 %) (Illum, 1998)
- Viskosität, die abhängig ist vom Deacetylierungsgrad, Molekulargewicht, Anzahl der positiven Ladungen, pH-Wert und Temperatur (Rabea *et al.*, 2003).

Die kommerzielle Anwendung von Chitosan ist attraktiv, da es nicht synthetisch erzeugt wurde und biokompatibel und biologisch abbaubar ist. Weitere Vorteile sind: Chitosan ist nicht teuer, nicht toxisch – nachgewiesen an einer Vielzahl von Toxizitätstests – (Illum, 1998) und kann durch die reaktiven Aminogruppen leicht modifiziert werden (Muzzarelli, 1988; Rabea *et al.*, 2003). Für Chitosan wurden eine Reihe von verschiedenen biologischen Eigenschaften beschrieben, so z.B. antimikrobielle Aktivität, Antitumor Aktivität, hämostatische Aktivität und Förderung der Wundheilung (Muzzarelli, 1988; Chandy & Sharma, 1990; Illum, 1998; Kurita, 1998; Hirano, 1999). Jedoch ist die Anwendung von Chitosan, wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser, seiner hohen Viskosität und Tendenz mit Proteinen bei hohem pH-Wert zu koagulieren, limitiert (Rabea *et al.*, 2003).

Das in der Zahnpasta Chitodent verwendete Chitosan wurde durch Deacetylierung (Behandlung mit NaOH), des aus Tintenfischen gewonnen Chitins, hergestellt. Es handelt sich um hochreines, deproteiniertes und demineralisiertes Chitosan, mit einem hohem Molekulargewicht (972.073 Da) und einem hohen Deacetylierungsgrad (DDA: > 95 %) (Focken & Schlaak, 2006)

Antimikrobielle Wirkung

Die antimikrobielle Wirkung von Chitosan ist seit einigen Jahren Gegenstand vieler Untersuchungen und wurde für Pilze, Bakterien und Viren beschrieben (Hirano & Nagano, 1989; Chirkov, 2002; Rabea *et al.*, 2003). Es wurde jedoch auch festgestellt, dass die antimikrobielle Wirkung von Chitosan von Verschiedensten Faktoren beeinflusst wird.

- Eigenschaften des verwendeten Chitosans (Ursprung, Molekulargewicht = MG; Deacetylierungsgrad = DDA; chemische Modifizierung)
- Umgebungsbedingungen (pH-Wert, Temperatur, Salzkonzentration)
- Mikroorganismen (Spezies, Lebensphase²).

¹ Wenn die Angaben bekannt sind, werden in Folgenden Abschnitten Molekulargewicht und Deacetylierungsgrad immer mit angegeben

² Bakterien haben ein charakteristisches Wachstumsverhalten, dass sich in vier Phasen gliedert: lag-Phase, exponentielle Wachstumsphase, stationäre Phase und Absterbephase.

Um einen ersten Überblick zubekommen, werden die möglichen Einflussfaktoren auf die antibakterielle Wirkung von Chitosan am Beispiel des Gram-negativen Bakteriums *Escherichia coli* - das in der Mikrobiologie als Modellorganismus verwendet wird und dessen Eigenschaften sehr gut beschrieben sind - im Folgenden kurz dargestellt.

- Liu *et al.* (2001) zeigten, dass die antibakterielle Wirkung von Chitosan (DDA: 73 - 85 %) mit zunehmenden Molekulargewicht steigt; jedoch nur, wenn das Molekulargewicht < 91.600 Da ist. Ist das Molekulargewicht > 91.600 Da, kehrt sich dieser Effekt um. Vermutet wird ein Zusammenhang mit dem Anteil der Aminogruppen, die entweder mit der bakteriellen Membran oder im Chitosanmolekül selbst interagieren können. Mit zunehmendem Deacetylierungsgrad, erhöht sich die antibakterielle Wirkung von Chitosan (Liu *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004).
- Der Einfluss des Umgebungsmediums, insbesondere der pH-Wert, war ebenfalls Schwerpunkt vieler Untersuchungen. Während ein saurer pH-Wert die antibakterielle Wirkung erhöht (Tsai & Su, 1999; Liu *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004), inhibiert ein pH-Wert > 7 den antibakteriellen Effekt von Chitosan (Liu *et al.*, 2001). Höhere Temperaturen (25 und 37 °C) verstärken den bakterioziden Effekt (Tsai & Su, 1999). Hingegen inhibieren sowohl hohe Salzkonzentrationen (Na²⁺ [100 mM]) als auch die Anwesenheit von zweiwertigen Kationen (Ba²⁺ > Ca²⁺ > Mg²⁺ [10 und 25 mM]) den bakterioziden Effekt von Chitosan (Tsai & Su, 1999).
- Die Lebensphase der Bakterien, scheint ebenfalls einen Einfluss auf die antibakterielle Wirkung von Chitosan zu haben. So waren z. B. *E. coli* Zellen, die sich in der späten exponentiellen Wachstumsphase befanden am empfindlichsten (Tsai & Su, 1999).

Humanpathogene Erreger von Plaque/Karies und Parodontitis

Eine erste Literaturrecherche ergab, dass die Ergebnisse der antibakteriellen Wirkung von verschiedenen Chitosan-Derivaten, nicht beliebig auf unterschiedliche Bakterienstämme übertragbar sind (Chen *et al.*, 1998; Rabea *et al.*, 2003; Chung *et al.*, 2004). Da Chitodent ein Produkt ist, das im menschlichen Mundhöhlen Raum angewandt wird, wird im Folgenden die antibakterielle Wirkung von Chitosan-Derivaten an einigen typischen Erregern, die Erkrankungen im Mundhöhlen-/Zahnbereich hervorrufen, verdeutlicht. Einige Bakterien der Gattung *Streptococcus* (Gram-positiv) sind humanpathogen und hauptverantwortlich für die Entstehung von Plaque und Karies.

Die antibakterielle Wirkung von verschiedenen niedermolekularen Chitosan-Derivaten wurde an *Streptococcus mutans* - ein auf der Zahnoberfläche anhaftendes, Säure produzierendes und dadurch Karies verursachendes Bakterium - nachgewiesen. Sowohl das Bakterienwachstum (Fujiwara *et al.*, 2004), als auch die Anhaftung der Streptococci an Speichel-beschichteten und unbeschichteten Hydroxyapatit³-Kügelchen wurde durch die Anwesenheit von Chitosan inhibiert (Tarsi *et al.*, 1997). Zusätzlich beschrieben Fujiwara *et al.* (2004), dass alle untersuchten Chitosan-Derivate (Polymer, Oligomer, Monomer), unabhängig vom Polymerisationsgrad, das Wachstum von *S. mutans* bei einem pH-Wert von 6,0 inhibierten. Kurita (1998) wies eine Abhängigkeit der antibakteriellen Eigenschaften von Chitosan gegen verschiedenen *S. mutans* Stämme, vom Molekulargewicht (10.000/70.000/220.000/426.000 Da) nach. Während das Chitosan mit dem MG von 10.000 Da die Lebendzellzahl um 13 - 60 % verringerte, verringerten alle anderen Derivate die Lebendzellzahl um > 90 %. Während die antibakterielle Wirkung von Chitosan an *S. mutans* mehrfach nachgewiesen wurde, zeigten Untersuchungen an anderen Vertretern der Gattung *Streptococcus*,

³ Hydroxyapatit = Keramik aus Kalzium und Phosphat; Hydroxyapatit ist Bestandteil des menschlichen Zahnschmelzes.

unterschiedliche Ergebnisse (Tarsi *et al.*, 1998; Decker *et al.*, 2005). Chitosan-Derivate, die bei *S. mutants* effizient wirkten, inhibierten das Wachstum von anderen untersuchten Streptococcen nicht (Tarsi *et al.*, 1997, 1998). Nur die modifizierten Derivate (N-Carboxymethyl-Chitosan und Imidazolyl-Chitosan), zeigten eine effiziente antibakterielle Wirkung bei allen untersuchten Streptococcen. Decker *et al.* (2005) untersuchten die antibakterielle Wirkung von Chitosan sowohl an planktonischen (freibewegliche Zellen in sterilem, menschlichem Speichel), als auch an Zahnschmelz-Plättchen angehafteten *Streptococcus sanguinis* Zellen. Es wurden unterschiedliche antibakterielle Effekte in Abhängigkeit vom verwendeten Chitosan-Derivat festgestellt. Beide Chitosan-Derivate wirkten nicht bzw. schwach antibakteriell auf die planktonischen Zellen. Hingegen zeigte eines der verwendeten Chitosan-Derivate eine starke antibakterielle Wirkung auf die angehafteten Zellen. Somit scheint die antibakterielle Wirkung von Chitosan bei Streptococcen sowohl von den chemisch-physikalischen Eigenschaften des Chitosan-Derivates, als auch von den Umgebungsbedingungen abzuhängen. Eine erhöhte antibakterielle Wirkung sowohl auf planktonische als auch auf an Oberflächen haftenden Zellen wiesen Decker *et al.* (2005), unter kombinierter Applikation von Chitosan und Chlorhexidin, nach.

Ein Erreger von Parodontitis⁴, ist das Gram-negative Bakterium *Porphyromonas gingivalis*. Der Einfluss der Viskosität, bioadhesiven Eigenschaften und antibakteriellen Eigenschaften von Chitosan-Derivaten mit unterschiedlichen Molekulargewicht und Deacetylierungsgrad wurden an *P. gingivalis* untersucht (Ikinici *et al.*, 2002). Sowohl das Chitosan-Gel als auch der Chitosan-Film zeigten bioadhesive Eigenschaften. Weiterhin stellten Ikinici *et al.* (2002) fest, dass die antibakteriellen Eigenschaften – getestet an *P. gingivalis* - mit höherem Molekulargewicht zunahmen. Das hochmolekulare Chitosan (MG: 1.400.000 und DDA: 80 %) wirkte im niedrig konzentrierten Chitosan-Gel (1 %), ähnlich antibakteriell, wie das hoch konzentrierte Chitosan-Gel (3 %) in dem das Chitosan-Derivat mit niedrigeren Molekulargewicht (MG: 272.000 und DDA: 73 – 95 %) verwendet wurde. Somit konnte hier über die Konzentration die antibakterielle Wirkung ausgeglichen werden. Der Deacetylierungsgrad beeinflusste die antibakteriellen Eigenschaften nicht.

- **Fazit:** Die antibakterielle Wirkung von Chitosan wurde mehrfach nachgewiesen, auch an humanpathogen Erregern, die Plaque, Karies und Parodontitis verursachen. Es wurde eindrucksvoll gezeigt, dass Verschiedenste Faktoren, die antibakterielle Wirkung von Chitosan beeinflussen. Übereinstimmend wurde festgestellt, dass ein saurer pH-Wert optimal für die antibakterielle Wirkung von Chitosan ist. Die Frage - ob ein niedermolekulares Chitosan-Derivat eine erhöhte antibakterielle Wirkung hat, als hochmolekulares Chitosan - kann nicht endgültig beantwortet werden; dies scheint Stammabhängig zu sein. Allerdings gibt es Hinweise, dass diese Unterschiede mit der eingesetzten Chitosan-Konzentration ausgeglichen werden können. Somit kann ein hochmolekulares Chitosan in niedriger Konzentration, wahrscheinlich eine ähnlich hohe antibakterielle Wirkung erzielen, wie ein höher konzentriertes niedermolekulares Chitosan.

Förderung der Wundheilung

In der Medizin, wird die Förderung der Wundheilung durch Chitosan bereits seit einigen Jahrzehnten erforscht. Chitosan-Zusätze werden als effektives Mittel und in biomedizinischen

⁴ Parodontitis: Entzündung des Zahnhalteapparates an der Wurzelspitze (apikal) oder am Zahnhals (marginal)

Membranen in verschiedenen Bereichen der Medizin und Zahnmedizin beschrieben und angewendet (Chandy & Sharma, 1990; Shigemasa *et al.*, 1995; Kas, 1997; Illum, 1998; Hirano, 1999; Muzzarelli *et al.*, 1999). Chitosan hat einige biologische Eigenschaften, die bei der Wundapplikation nützlich sind und somit die Wundheilung fördern:

- Biokompatibel
- Biologisch abbaubar
- Hämostatische Eigenschaften,
- Antibakterielle Eigenschaften
- Förderung der Wundheilung
- In allen Fällen war die Toxizität vernachlässigbar gering
(Zusammenfassung in: Illum, 1998); die orale Toxizität (getestet an Mäusen) wurde beschrieben mit 16 g/Kg Körpergewicht (Arai *et al.*, 1968).

Der Heilungsprozess einer Wunde setzt sich aus mehreren Phasen zusammen: Koagulation, Entzündung, Zellproliferation und Migration, Bildung von Granulationsgewebe⁵, Matrix und Remodellierungsphase. Auf Grund der Eigenschaften von Chitosan, wird ein positiver Effekt auf die Wundheilung beschrieben (Chandy & Sharma, 1990; Hirano, 1999; Kojima, 2004). So fördert Chitosan z. B. die Entlassung chemotaktischer, inflammatorischer Zytokine durch Fibroblasten (Mori, 1997; Muzzarelli *et al.*, 1989). Zusätzlich belegten histologische Untersuchungen, dass Chitosan die Einwanderung von polymorphkernigen Leukozyten und Makrophagen in das betroffene Gewebe stimuliert (Hidaka *et al.*, 1999; Lu *et al.*, 1999). In den letzten Phasen der Wundheilung fördert Chitosan die Angiogenese⁶, Reorganisation der extrazellulären Matrix und Bildung des Granulationsgewebes. Zusätzlich wurde beschrieben, dass Chitosan, einen Wasser absorbierenden, Sauerstoff durchlässigen Film bilden kann (Shigemasa & Minami, 1996), der vom Körper wieder abgebaut werden kann.

Die Förderung der Wundheilung nach Applikation von Chitosan-Derivaten wurde vielfach *in vivo* an Ratten nachgewiesen. Sowohl mit einem Monomer (MG: 215,6 Da) als auch mit verschiedenen Polymeren (MG: 80.000/191.000/300.000 Da; DDA: 80/85 %) wurde eine Förderung der Wundheilung *in vivo* und *in vitro* nachgewiesen (Shigemasa & Minami, 1990; Kojima *et al.*, 2004; Matsunaga *et al.*, 2006). Kweon *et al.* (2003) stellte einen wasserlöslichen Chitosan/Heparin Komplex her, um so die fördernde Wundheilung durch Chitosan (MG: 200.000; DDA: 90 %) mit den Wachstumsfaktoren bindenden Eigenschaften des Heparins zu vereinen. Ein weiterer Vorteil war die hohe Viskosität des gebildeten Chitosan/Heparin Komplex (7,24 und 7,32 Pa s), der die direkte Anwendung verbesserte. Die Ergebnisse zeigten, dass die Wundheilung *in vivo* mit dem wasserlöslichen Chitosan/Heparin Komplex am effektivsten war. Jedoch lag die Wundheilung, der nur mit Chitosan behandelten Wunde, immer noch deutlich über der unbehandelten Wunde (Kweon *et al.*, 2003). Ishihara (2002) verwendete ein Chitosan-Gel (photocrosslinked), mit bioadhesiven Eigenschaften. Dieses Chitosangel (Chitosan MG: 800.000 - 1.000.000 Da; DDA: 80 %) wurde mit p-Azidobenzoesäure und Lactobionsäure substituiert. Nach dem Auftragen auf die Wunde und einer kurzen - für den Organismus ungefährlichen - UV-Behandlung, entstand ein unlöslicher, nicht toxischer und stark adhesiver Wundverschluss. Die Förderung der Wundheilung mit diesem Gel wurde an verschiedenen Organismen (Schwein, Hase, Ratte) untersucht und war jeweils nur nach der UV-Behandlung sehr effizient.

⁵ Granulationsgewebe wird bei der Wundheilung gebildet; es handelt sich dabei um rötliche, stecknadelkopfgröße Gebilde, das aus neugebildeten Haargefäßen und Bindegewebe besteht

⁶ Angiogenese = Wachstum von kleinen Blutgefäßen (Kapillaren), aus einem vorgebildeten Kapillarsystem

Anwendung in der Zahnmedizin

Gerade im Bereich der Zahnmedizin steht Förderung der Wundheilung durch verschiedene Chitosan-Derivate, die z. B. als Gel aufgetragen werden können, im Focus der Forschung. Besonders bei Parodontitis (einer schweren Erkrankung des Zahnapparates), die durch Zerstörung der Kollagenfasern zur Bildung von „Taschen“ und Lockerung der Zahnhäse führt - erhofft man sich durch die Modifikation von Chitosan-Derivaten eine schnellere und effiziente Wundheilung. Untersuchungen hierzu zeigten, dass die Modifizierung der Chitosan-Derivate die Wundheilung förderte und die Applikation erleichterte. So mischten Muzzarelli *et al.* (1989) Chitosan mit Ascorbinsäure und Natriumascorbat und stellten ein Gel her, das effizient gegen Parodontitis wirkte. Die Zahnbeweglichkeit und Taschentiefe wurde *in vivo* (52 Patienten) signifikant reduziert. Bumgardner *et al.* (2003) untersuchten die potentielle Anwendung von Chitosan als Hüllmaterial z. B. für Zahnimplantate. Verwendet wurde ein Chitosan-Derivat (MG: 200.000 Da und DDA: 91,2 %), das chemisch an Titanium gebunden wurde. Es wurde außerdem der Nachweis erbracht, dass die Sterilisation keinen Einfluss auf die Struktur des Chitosans hatte und dass auch nach acht Wochen keine signifikanten Abbauerscheinungen nachgewiesen wurden. Dies bestätigte den Zusammenhang zwischen hohem Deacetylierungsgrad und geringem Polymerabbau.

Fazit: Die idealen Eigenschaften eines Gels, das die Wundheilung unterstützt, sind:

- Schutz vor bakteriellen Infektionen
- Herstellung einer optimalen Umgebung für die Wundheilung und Stimulierung der Wundheilung
- Biokompatibel, d.h. es kommt zu keinen Abstoßungserscheinungen durch die Immunabwehr

Bindung von Schwermetallen

Chitin und Chitosan haben die interessante Eigenschaft, verschiedene Metallionen selektiv zu binden (Kurita *et al.*, 1979; Randall *et al.*, 1979). Der hohe Anteil der reaktiven Aminogruppen-Gruppen in Chitosan, erzeugt neue Bindungseigenschaften für Metallionen, wie z. B. Cadmium, Kupfer, Eisen, Uran, Quecksilber und Chrom (Eiden *et al.*, 1980). Die Sorption dieser Ionen ist stark pH-Wert abhängig. Durch die primären Aminogruppen im Chitosanmolekül sind chemische Modifikationen möglich, wie z. B. kovalente Bindung von Liganden und Komplexbildung. Dies ermöglicht die Herstellung neuer Chitosan-Derivate, die wiederum Schwermetalle selektiv z. B. aus kontaminierten Abwässern binden können.

Die Schwermetalladsorption (Quecksilber- und Kupferchlorid) durch Chitin und Chitosan ist vom Anteil der reaktiven Aminogruppen abhängig (Kurita *et al.*, 1979). Jedoch gilt diese Aussage nur, wenn der Anteil der reaktiven Aminogruppen zwischen 15 - 50 % liegt. Liegt der Anteil über 50 %, hängen die Adsorptionseigenschaften nur noch schwach vom Deacetylierungsgrad ⁷ab. Vergleicht man die Schwermetalladsorption (Blei(II) und Chrom(III)) so hat Chitosan im Vergleich zum Chitin die deutlich effektiveren Adsorptionseigenschaften (Eiden *et al.*, 1980). Dies unterstützt die Aussage, dass die Metalladsorption

⁷ Mit zunehmenden Deacetylierungsgrad steigt der Anteil der reaktiven Aminogruppen

nicht nur vom Anteil der Aminogruppen abhängt. Mitani *et al.* (1995) untersuchten den Einfluss verschiedener Anionen (Sulfat/Chlorid) und deren Ladung auf die Adsorption von Co(II) und Ni(II) an Chitosan-Perlen. Die Bindungseffizienz war von der negativen Ladung abhängig. Sulfationen erwiesen sich als stark stimulierend auf die Metallbindung an Chitosan-Perlen (Mitani *et al.*, 1995; Becker *et al.*, 2000). Die Bindung von verschiedenen Metallen, an Chitosan (DDA: 75 %) wurde von Lasko *et al.* (1993) untersucht. Dabei wurde bei einem pH-Wert von 5,0 eine aufsteigende Adsorption der Metallionen an Chitosan ermittelt: (Pb(II)) > Fe(II) > Cd(II) > Cu(II). Es zeigte sich, dass Kupfer am effektivsten von Chitosan adsorbiert wurde. Jedoch muss man hier berücksichtigen, dass alle Metalle als Sulfatsalz zugegeben wurden, mit Ausnahme von PbCl₂, somit ist die Stellung von Blei(II) in dieser Reihe unsicher. Mit Hilfe verschiedener chemischer Modifizierungen wurde versucht, die Effizienz und die Spezifität der Metalladsorption zu verbessern (Lasko *et al.*, 1993; Guibal *et al.*, 1998). Dabei waren fast alle Derivate in der Lage, die Effizienz zu steigern. Becker *et al.* (2000) vernetzten Chitosan (DDA: 83 %) mit Dialdehyd oder Tetracarboxylsäure und untersuchten die Adsorptionseigenschaften folgender Metalle: Nickel(II), Zink(II), Cadmium(II), in Abhängigkeit von unterschiedlichen Anionen (Nitrat, Chlorid, Sulfat) bei einem schwach sauren pH-Wert von 6,0. Vier der sechs Derivate zeigten eine erhöhte Metallaufnahme in Sulfat-haltiger Lösung. Jedoch waren diese Derivate wenig Metall-selektiv. Mit einer Ausnahme, Cadmium(II) wurde sehr gut in Chlorid-haltiger Lösung gebunden. Die anderen beiden Chitosan-Derivate waren sehr selektiv für Nickel(II) und Cadmium(II). Dieses selektive Verhalten existierte innerhalb eines pH-Bereiches zwischen 3 - 6 und war unabhängig vom Anion.

Schwermetalle im Mundbereich

Im Bereich der menschlichen Mundhöhle kann es durch den Austausch der Amalgam Legierungen – besteht aus metallischen Quecksilber (ca. 50 %) und aus einem Silber- (mind. 40 %), Zinn- (max. 32 %), Kupfer- (max. 30 %), Zink- (max 2 %) und Indium- (max. 5 %) haltigen Pulver - zur Freisetzung von Quecksilber kommen. In diesem Fall, wird Quecksilber als Kation (Hg²⁺) oder Quecksilberdampf (Hg⁰) freigesetzt (BfArM, 2003). Im Zusammenhang mit Amalgam sind ausschließlich Hg⁰ und Hg²⁺ von Bedeutung (Harhammer, 2001). Quecksilber kann auch in Form von Methylquecksilber über die Nahrung – insbesondere durch Fisch oder Fischprodukte - aufgenommen werden. Als mögliche Wege einer Quecksilber-Aufnahme in den Organismus kommen die gastrointestinalen (Hg²⁺/Hg⁰) und die pulmonale (Hg⁰) Resorption in Betracht, wobei die Resorptionsquote von Quecksilber im ersten Fall bei 10 bzw. 1 % und im letzteren Fall bei 80 % liegt (BfArM, 2003). Das pulmonal resorbierte Hg⁰ wird bereits nach kurzer Zeit im Blut zu Hg²⁺ oxidiert. Andere Resorptionswege, wie die Hg-Aufnahme über die Pulpa⁸, Gingiva⁹ oder Mundschleimhaut sind mit hoher Wahrscheinlichkeit zu vernachlässigen (Harhammer, 2001).

Literatur

Arai, K., Kinumaki, T. & Fujita, T. (1968). Toxicity of chitosan. *Bull Tokai Region Fish Lab* **56**, 89-94.

Becker, T.; Schlaak, M. & Strasdeit, H. (2000). Adsorption of nickel(II), zinc(II) and cadmium(II) by new chitosan derivatives. *React Funct Polym* **44**, 289-298.

Bumgardner, J. D., Wisner, R., Gerard, P. D., Bergin, P., Chestnutt, B., Marini, M., Ramsey, V., Elder, S.

⁸ Pulpa = Zahnmark

⁹ Gingiva = Zahnfleisch

H. & Gilbert, J. A. (2003). Chitosan: Potential use as bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants. *J Biomater Sci Polymer Edn* **14**, 423-438.

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (2003). Amalgame in der zahnärztlichen Therapie. <http://www.bfarm.de>.

Chandy, T. & Sharma, C. P. (1990). Chitosan - As a biomaterial. *Biomater Artif Cell* **18**, 1-24.

Chen, C. S., Liao, W. Y. & Tsai, G. J. (1998). Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *J Food Prot* **61**, 1124-1128.

Chirkov, S. N. (2002). The antiviral activity of chitosan (Review). *Appl Biochem Micro* **38**, 1-8.

Chung, Y. C., Su, Y. P., Chen, C. C., Jia, G., Wang, H. I., Wu, J. C. G. & Lin, J. G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol Sin* **25**, 932-936.

Decker, E. M., von Ohle, C., Weiger, R., Wiech, I. & Brex, M. (2005). A synergistic chlorhexidine/chitosan combination for improved antiplaque strategies. *J Periodont Res* **40**, 373-377.

Eiden, C. A., Jewell, C. A. & Wightman, J. P. (1980). Interaction of lead and chromium with chitin and chitosan. *J Appl Polym Sci* **25**, 1587-1599.

Focken, H. & Schlaak, M. (2006). Herstellung hochreinen Chitosans aus Tintenfischabfällen – Abschlussbericht.

Fujiwara, M., Hayashi, Y. & Ohara, N. (2004). Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*. *Microbiologica* **27**, 83-86.

Guibal, E., Milot, C. & Tobin, J. M. (1998). Metal-Anion sorption by chitosan beads: Equilibrium and kinetic studies. *Ind Eng Chem Res* **37**, 1454-1463.

Harhammer, R. (2001). Zur Risikobewertung des zahnärztlichen Füllungswerkstoffes Amalgam. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* **44**, 149-154.

Hidaka, Y., Ito, M., Mori, K., Yagasaki, H., Kafrawy, A. H. (1999). Histopathological and immunohistochemical studies of membranes of deacetylated chitin derivatives implanted over rat calvaria. *J Biomed Res* **46**, 418-423

Hirano, S. & Nagao, N. (1989). Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agric Biol Chem* **53**, 3065-3066.

Hirano, S. (1999). Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. *Polym Int* **48**, 732-734.

Ikinci, G., Senel, S., Akincibay, H., Kas, S., Ercis, S., Wilson, C. G. & Hincal, A. A. (2002). Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Int J Pharm* **235**, 121-127.

Illum, L. (1998). Chitosan and its use as pharmaceutical excipient. *Pharm Res* **15**, 1326-1331.

Ishihara, M. (2002). Photocrosslinkable chitosan hydrogel as a wound dressing and a biological adhesive. *Trends Glycosci Glyc* **14**, 331-341.

Kas, H. S. (1997). Chitosan: Properties, preparation and application to microparticulate systems. *J Microencapsulation* **14**, 689-711.

Kojima, K., Okamoto, Y., Kojima, K., Miyatake, K., Fujise, H., Shigemasa, Y. & Minami, S. (2004). Effects of chitin and chitosan on collagen synthesis in wound healing. *J Vet Med Sci* **66**, 1595-1598.

Kurita, K., Sannan, T. & Iwakura, Y. (1979). Studies on chitin. VI. Binding of metal cations. *J Appl Polym Sci* **23**, 511-515.

Kurita, K. (1998). Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polym Degrad Stabil* **59**, 117-120.

- Kweon, D. K., Song, S. B. & Park, Y. Y. (2003).** Preparation of water-soluble chitosan/heparin complex and its application as wound healing accelerator. *Biomaterials* **24**, 1595-1601.
- Lasko, C. L., Pestic, B. M. & Oliver, D. J. (1993).** Enhancement of the metal-binding properties of chitosan through synthetic addition of sulfur-containing and nitrogen-containing compounds. *J Appl Polym Sci* **48**, 1565-1570.
- Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z., Li, Z. & Yao, K. D. (2001).** Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *J Appl Polym Sci* **79**, 1324-1335.
- Lu, J. X., Prudhommeaux, F., Meunier, A., Sedel, L., Guillemin, G. (1999).** Effects of chitosan on rat knee cartilages. *Biomaterials* **20**, 1937-1944.
- Matsunaga, T., Yanagiguchi, K., Yamada, S., Ohara, N., Ikeda, T. & Hayashi, Y. (2006).** Chitosan monomer promotes tissue regeneration on dental pulp wounds. *J Biomed Mater Res A* **76**, 711-720.
- Mitani, T., Nakajima, C., Sungkono, I. E. & Ishii, H. (1995).** Effects of ionic strength on the adsorption of heavy metals by swollen chitosan beads. *J Environ Sci Health A* **30**, 669-674.
- Mori, T., Okumura, M., Matsuura, M., Ueno, K., Tokura, S., Okamoto, Y., Minami, S., Fujinaga, T. (1997).** Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials* **18**, 947-951.
- Muzzarelli, R. A. A. (1988).** Carboxymethylated chitins and chitosans. *Carbohydr Polym* **8**, 1-21.
- Muzzarelli, R., Biagini, G., Pugnali, A., Filippini, O. & Baldassarre, V. (1989).** Reconstruction of parodontal tissue with chitosan. *Biomaterials* **10**, 598-603.
- Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G. & Steurbaut W. (2003).** Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules* **4**, 1457-1465.
- Randall, J. M., Randall, V. G., McDonald, G. M., Young, R. N. & Masri, M. S. (1979).** Removal of trace quantities of nickel from solution. *J Appl Polym Sci* **23**, 727-732.
- Schanzenbach, D. (2001).** Chitin und Chitosan: Chemie und Biochemie vielseitiger Naturstoffe. *Prax Naturwis Chem* **6**, 8-17.
- Shigemasa, Y. & Minami, S. (1995).** Applications of chitin and chitosan for biomaterials. *Biotechnol Genet Eng* **13**, 383-420.
- Tarsi, R., Muzzarelli, R. A. A., Guzman, C. A. & Pruzzo, C. (1997).** Inhibition of *Streptococcus mutans* adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight Chitosans. *J Dent Res* **76**, 665-672.
- Tarsi, R., Corbin, B., Pruzzo, C. & Muzzarelli, R. A. A. (1998).** Effect of low-molecular-weight chitosans on the adhesive properties of oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* **13**, 217-224.
- Tsai, G. J. & Su, W. H. (1999).** Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J Food Prot* **62**, 239-243.