

УДК 678.664:678.665:615.355

**К. В. Сташенко, Т. В. Руденчик, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко,  
Л. Ф. Наражайко**Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України  
Харківське шосе, 48,  
м. Київ, 02160, Україна  
e-mail: katuwka2014@gmail.com**БІОСУМІСНІ КОМПОЗИЦІЙНІ МАТЕРІАЛИ  
З ЛІЗОЦИМОМ НА ОСНОВІ ПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИН  
З ФРАГМЕНТАМИ КОПОЛІМЕРУ N-ВІНІЛПІРОЛІДОНУ,  
ВІНІЛАЦЕТУ ТА ВІНІЛОВОГО СПИРТА**

Синтезовано ряд ПУС, що містять у своїй структурі кополімер N-вінілпіролідон з вініловим спиртом (ВП-ВС) за різного відсоткового співвідношення 4,4'-діамінодифенілметану (ДАДФ) до ВП-ВС (30:70; 50:50; 70:30) та отримано ряд композиційних матеріалів з лізоцимом (вміст лікарської речовини 1 мас. %). За даними ІЧ-спектроскопічних досліджень іммобілізація лізоциму відбувається за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків (фізична іммобілізація). Встановлено, що зразки ПУС наповнені лізоцимом, синтезовані за відсоткового співвідношення ДАДФ до кополімеру ВП-ВС 70:30 мають кращі фізико-механічні властивості ( $\sigma = 11,5$  МПа,  $\epsilon = 76$  %). Введення до складу ПУС лізоциму приводить до підвищення міцності при розриві від 43% до 97%. Для композицій з лізоцимом спостерігається збільшення температури склування і зниження стрибка теплоємності, що зумовлено зниженням сегментальної рухливості макромолекул. Встановлено, що досліджувані системи є однофазними. Методом культури тканин встановлено, що всі композиційні матеріали є біосумісними та не токсичними.

**Ключові слова:** поліуретансечовини, кополімер N-вінілпіролідону з вінілацетатом та вініловим спиртом, 4,4'-діамінодифенілметан, лізоцим, композиційні матеріали.

Сучасний етап розвитку медицини характеризується інтенсивними пошуками нових композиційних матеріалів для відновлення і забезпечення нормальної життєдіяльності організму, зокрема для лікування ран та опіків [1–3]. Вибір полімерної основи зумовлений кінцевими властивостями та сферою використання розробленого матеріалу.

Завдяки біосумісності та фізико-хімічним і фізико-механічним властивостям, поліуретансечовини (ПУС) є потенційним матеріалом для медичного використання, в тому числі як носії лікарських речовин. Для надання полімерним матеріалам медичного призначення спорідненості до тканин організму доцільним є введення до структури ПУС гідрофільних ланцюгів кополімеру N-вінілпіролідону вінілацетату та вінілового спирту, який широко використовують в медицині [4].

Відомі [5] гідрофільні, біосумісні поліуретани з фрагментами кополімеру ВП-ВС в структурі, наповнені аміноном з пролонгованою протизапальною дією. На основі ПУС, які містять у структурі фрагменти кополімеру ВП-ВС розроблено плівкові матеріали з декаметоксином, які запропоновані для використання як полімерні матеріали з протимікробною дією для лікування ран та опіків [6]. Авторами [7] отримано композиційні матеріали на основі ПУС наповнені тіамулінфумаратом, які можуть бути використані в хірургії як дренажі.

Не дивлячись на значну кількість робіт, пов'язаних з розробкою та дослідженнями в області створення гідрофільних полімерних матеріалів медичного призначення, залишається необхідність створення біологічно активних гідрофільних композиційних матеріалів з пролонгованою гідролітичною активністю, як засобів лікування некротичних ран. З цієї точки зору, лізоцим є сполука біологічно активна, дія якої може бути направлена на сприяння розчинення некротичних мас.

Лізоцим – фермент класу гідролаз, який є антибактеріальним агентом, що руйнує клітинні оболонки бактерій шляхом гідролізу пептидних зв'язків та володіє гідролітичною активністю [8]. Лізоцим широко використовують при лікуванні опіків, гнійних процесів, відмороження, ерозії роговиці ока та інших захворюваннях [9].

Враховуючи вище зумовлене, метою роботи є розробка ряду біосумісних композиційних матеріалів на основі ПУС з фрагментами кополімеру N-вінілпіролідону з вініловим спиртом (ВП-ВС) та подовжувачем макроланцюга ДАДФ і лізоцимом, дослідження їх структури та властивостей.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Матеріали. Поліоксипропіленгліколь (ПОПГ) („Rokopol” Польща) ММ 1052 сушили за залишкового тиску 1–3 мм рт. ст. і температури  $(80 \pm 5)^\circ\text{C}$  у потоці сухого аргону протягом 8 год безпосередньо перед синтезом.

2,4-,2,6-толуїлендіізоціанат (ТДІ, 80/20)  $\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$  (Merck, Німеччина) (ММ = 174,16;  $\rho = 1,22 \text{ г/см}^3$ ;  $T_{\text{кип}} = (133 \pm 1)^\circ\text{C}$ ;  $n_D^{20} = 1,5678$ ) – суміш ізомерів 2,4- та 2,6- за співвідношення 80/20, очищали перегонкою в вакуумі за залишкового тиску 0,67 кПа,  $T_{\text{кип}} = (100 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Використовували свіжоперегнаним.

4,4'-діамінодифенілметан (ДАДФ)  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2$  (Fluka, 97,0 %) (ММ = 198,27;  $T_{\text{пл}} = 88\text{--}92^\circ\text{C}$ ) застосовували без додаткового очищення.

N,N'-диметилацетамід (ДМАА) (Merck, Німеччина) (ММ = 87,12;  $\rho = (0,940\text{--}0,942) \text{ г/см}^3$ ; 99,7 %) переганяли з сумішшю бензол-вода у вакуумі ( $T_{\text{кип}} = (52 \pm 1)^\circ\text{C} / 14 \text{ мм рт.ст.}$ ).

Потрійний кополімер ВП-ВА-ВС (ОН = 3,47 %), був синтезований з кополімеру N-вінілпіролідону з вініацетатом (ВП-ВА) (Sigma-Aldrich) (ММ 50000) шляхом лужного алкоголізу за умов неповного омилення [10].

Враховуючи те, що при неповному омиленні вінілацетату кополімер вінілацетату з вініловим спиртом називають полівініловим спиртом, синтезований потрійний кополімер ВП-ВА-ВС в представленій роботі буде мати аббревіатуру ВП-ВС і носити назву кополімер N-вінілпіролідону з вініловим спиртом [10].

Методи дослідження. ІЧ-спектри поглинання в області  $650\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$  були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ) з використанням призми-трапедії кристалу алмаза (число відображень  $N = 1$ , кут падіння  $\varphi = 39^\circ$ ).

Фізико-механічні показники, такі як міцність при розриві ( $\sigma$ , МПа) та відносне подовження при розриві ( $\epsilon$ , %), синтезованих ПУС знімали на розривній машині Р5 за ГОСТ 25.601.

Теплофізичні властивості (температури склування ( $T_g$ ), зміни теплоємності при температурі склування ( $\Delta C_p$ )) вивчали методом ДСК. Дослідження прово-

дили в інтервалі температур від -90 до +200 °С (прилад TA Instrument Q2000) зі швидкістю нагрівання 20 °С/хв. Для виключення впливу термічної та механічної передісторії матеріалу проводили 2 нагрівання.

Метод культури тканин використовували для встановлення біосумісності ПУС з лізоцимом. Як джерело клітин використовували підшкірну клітковину білих лабораторних щурів, що за умов культивування дає ріст фібробластичних елементів [11]. Як контроль використовували флакони з експлантатами підшкірно-жирової клітковини без додавання полімерних зразків. Як досліджувані зразки: №1 – ДФП+ГМДА+ВП-ВС(70:30); №2 – ДФП+ГМДА+ВП-ВС(70:30)+лізоцим. Дослідження росту і розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини білих щурів проводили на 3, 7, 10, 14 добу.

Метод синтезу ПУС. Гідрофільні ПУС синтезували у чотири стадії за методикою наведеною в [12]. Для отримання ПУС за різного відсоткового співвідношення ДАДФ до кополімеру ВП-ВС реакцію між діізоціанатним форполімером (ДФП) та ДАДФ проводили до досягнення різного вмісту вільних NCO-груп (30, 50, 70 % конверсії). Схема реакції синтезу ПУС, які містять у структурі фрагменти кополімеру ВП-ВС, зображена на рис.1.

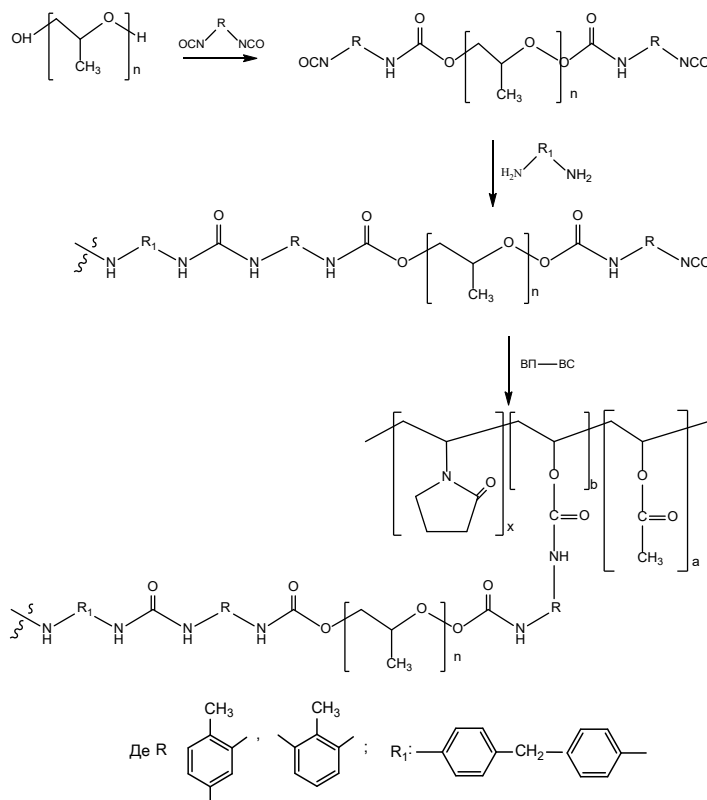


Рис. 1. Схема реакції синтезу ПУС, які містять у своїй структурі фрагменти кополімеру ВП-ВС

Наповнення синтезованих ПУС лізоцимом у кількості 1 % мас. здійснювали шляхом механічного перемішування полімерної основи та розчину лізоциму в ДМАА.

Результати досліджень та їх аналіз

Для вибору полімерного матеріалу з оптимальними фізико-механічними показниками було отримано ряд ПУС, синтезованих за різного відсоткового співвідношення ДАДФ:ВП-ВС (30:70; 50:50; 70:30).

За результатами фізико-механічних випробувань варіювання вмісту кополімеру ВП-ВС в структурі отриманих ПУС спричиняє зміни фізико-механічних властивостей. Встановлено, що зі зменшенням кількості кополімеру ВП-ВС у структурі ПУС спостерігається збільшення міцності та відносного подовження при розриві (табл.1).

Таблиця 1

**Фізико-механічні властивості ПУС та ПУС з лізоцимом із подовжувачем макроланцюга ДАДФ**

Зразки ПУС	ДАДФ/ВП-ВС, %	$\sigma$ , МПа	$\epsilon$ , %
ДФП+ДАДФ+ВП-ВС	70:30	6,4	98
	50:50	4,9	94
	30:70	3,9	92
ДФП+ДАДФ+ВП-ВС+лізоцим	70:30	11,5	76
	50:50	8,5	59
	30:70	7,7	55

Показники міцності при розриві ПУС, що містять у своїй структурі кополімер ВП-ВС та подовжувач макроланцюга ДАДФ, знаходяться у діапазоні 3,9–6,4 МПа, а показники відносного подовження при розриві – у діапазоні 92–98 %, а також 7,7–11,5 МПа та 55–76 % для ПУС з лізоцимом (табл. 1).

Введення до складу отриманих полімерних матеріалів лізоциму також приводить до підвищення міцності та зниження відносного подовження при розриві в порівнянні з ненаповненими ПУС. Для ПУС з ДАДФ міцність при розриві в порівнянні з контрольними зразками підвищується від 43% до 97%.

Найбільші значення фізико-механічних властивостей серед синтезованих ПУС характеризуються зразки полімерних матеріалів, синтезовані за відсоткового співвідношення компонентів ВП-ВС до ДАДФ як 70:30, як ненаповнені, так і наповнені лізоцимом ( $\sigma = 6,4$  МПа,  $\epsilon = 98$  % та  $\sigma = 11,5$  МПа,  $\epsilon = 76$  % відповідно).

Отже, за результатами фізико-механічних випробувань встановлено оптимальне співвідношення компонентів при синтезі та вплив лізоциму на властивості ПУС з фрагментами кополімеру ВП-ВС.

За даними теплофізичних досліджень в ряду ПУС при збільшенні вмісту ВП-ВС у структурі при другому прогріві спостерігається зниження значень температури склування та зниження стрибка теплоємності (табл.2), що корелюється з результатами фізико-механічних досліджень (зі збільшенням концентрації копо-

лімеру ВП-ВС у структурі ПУС спостерігається зниження показника міцності та відносного подовження при розриві).

Таблиця 2

Теплофізичні властивості ПУС з подовжувачем макроланцюга ДАДФ

Зразки ПУС	ДА/ВП-ВС, %	T <sub>g</sub> , °C		ΔC <sub>p</sub> , Дж/(г°C)	
		1 прогрів	2 прогрів	1 прогрів	2 прогрів
ДФП+ДАДФ+ ВП-ВС	30:70	-32,0	-43,9	0,2507	0,2309
	50:50	-28,4	-42,6	0,2624	0,2297
	70:30	-30,7	-41,8	0,2862	0,2665
ДФП+ДАДФ+ ВП-ВС+лізоцим	30:70	-31,3	-32,1	0,2274	0,2127
	50:50	-31,4	-32,7	0,2126	0,2183
	70:30	-24,3	-31,5	0,2934	0,2772

Температурні залежності теплоємності ПУС різної структури, мають один і той же характер, тому наведені криві теплоємності тільки ПУС (30:70), синтезованих з використанням різного подовжувача макроланцюга (рис. 2). На термограмах усіх досліджуваних ПУС спостерігали один перехід склування і, відповідно, одну температуру склування (T<sub>g</sub>). Отже, досліджувані системи однофазні.

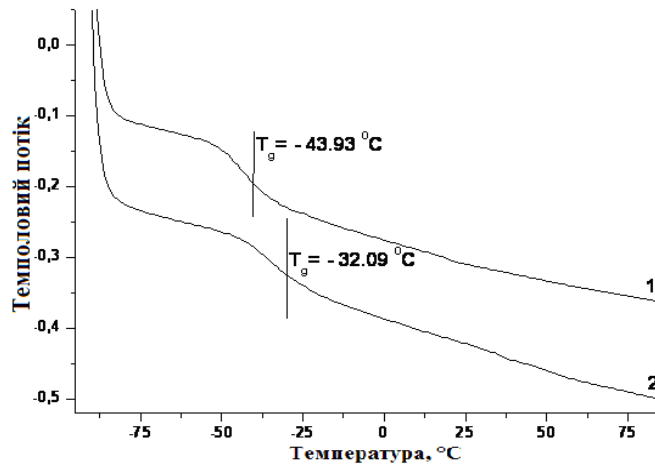


Рис. 2. Типові термограми (2 прогрів): 1 – ДФП+ДАДФ+ ВП-ВС; 2 – ДФП+ДАДФ+ ВП-ВС + лізоцим.

Теплофізичні властивості ПУС залежать від наявності в їх складі лізоциму. При введенні до складу ПУС ферменту спостерігається збільшення температури склування і зниження стрибка теплоємності, що зумовлено зниженням сегментальної рухливості макромолекул.

Про проходження реакції уретаноутворення між NCO-групамиДФП та OH-групами кополімеру ВП-ВС свідчать зміни в діапазоні ІЧ-спектрів 3000–3700  $\text{cm}^{-1}$  та 1500–1800  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 3).

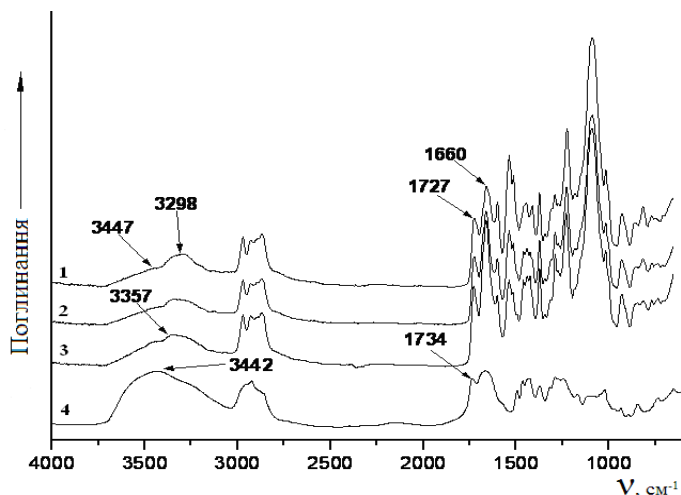


Рис. 3. ІЧ-спектри синтезованих ПУС: 1 –ДФП+ДАДФ+ВП-ВС(70:30); 2 —ДФП+ДАДФ+ВП-ВС(50:50); 3 –ДФП+ДАДФ+ВП-ВС(30:70); 4 –ВП-ВС.

На ІЧ-спектрах ПУС, синтезованих з подовжувачем макроланцюга ДАДФ в частотному інтервалі валентних коливань NH-груп 3000–3700  $\text{cm}^{-1}$  смуга поглинання  $\nu_{\text{OH}}$  3442  $\text{cm}^{-1}$  кополімеру ВП-ВС (рис. 3, крива 4) на спектрах ПУС відсутня, що свідчить про взаємодію OH-груп кополімеру з NCO-групамиДФП з появою смуг поглинання  $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$  – 3298  $\text{cm}^{-1}$  і  $\nu_{\text{NH-вільн.}}$  з приблизним максимумом 3447  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 3, крива 1-3).

Порівнюючи ІЧ-спектри ПУС, синтезованих за різного відсоткового співвідношення компонентів виявлено, що зі збільшенням вмісту кополімеру ВП-ВС у структурі ПУС спостерігається перерозподіл інтенсивностей смуг поглинання вільних та зв'язаних NH-груп (слабке зниження інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$  – 3298  $\text{cm}^{-1}$ , а також слабке збільшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{NH-вільн.}}$  3447  $\text{cm}^{-1}$ ).

В діапазоні спектрів 1500–1800  $\text{cm}^{-1}$  із збільшенням вмісту кополімеру у структурі досліджуваних полімерних матеріалів відбувається збільшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{C=O}}$  1727  $\text{cm}^{-1}$  COO-груп, що пов'язано з підсумуванням двох смуг поглинання:  $\nu_{\text{C=O}}$  кополімеру та  $\nu_{\text{C=O}}$  полімерної матриці, а також збільшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{C=O}}$  вінілпіролідонового кільця 1660  $\text{cm}^{-1}$ .

При порівнянні спектрів ПУС без лізоциму (рис. 4-а, крива 1) та спектрів ПУС із лізоцимом (рис. 4-а, крива 2) встановлено, що при введенні ферменту до складу полімерної матриці не спостерігається утворення нових смуг поглинання. Це свідчить про відсутність хімічної взаємодії лікарської речовини з ПУС. На спектрах ПУС із лізоцимом (рис. 4-б) спостерігається підвищення інтенсивності смуги поглинання NH-груп 3447  $\text{cm}^{-1}$ , що свідчить про збільшення кількості NH-груп

слабо зв'язаних водневими зв'язками. Тому можна зробити висновок про фізичну іммобілізацію лізоциму за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків.

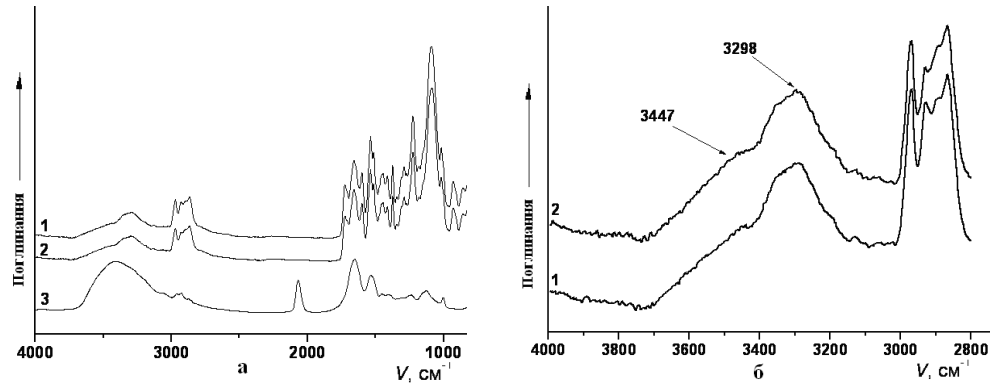


Рис. 4. ІЧ-спектри ферменту та ПУС: 1 –ДФП+ДАДФ+ВП-ВС (70:30) (а, б); 2 –ДФП+ ДАДФ +ВП-ВС (70:30) + лізоцим (а, б); 3 – лізоцим (а).

Методом тканинної культури були досліджені полімерні композиції за співвідношення ДА до кополімеру ВП-ВС 70:30 як ненаповнені, так і наповнені лізоцимом.

Перші ознаки росту, які проявлялися міграцією одиничних клітин округлої форми, а також одинично мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну форму, як в контролі, так і у всіх дослідних зразках спостерігалися до кінця 3 доби.

Для всіх дослідних зразків на 5-7 доби дослідження характерно формування 3-х зон росту: компактної, що складається з клітин веретеноподібної і полігональної форми, сіткоподібної, яка формувалась з пучків і тяжів, що розташовані сіткоподібно, й зона одиничних мігруючих елементів. Але, слід зазначити, що в флаконах зі зразками з лізоцимом, клітини розташовувалися більш компактно, формуючи тяжі, площі зон росту були значно ширше в порівнянні з контролем, спостерігався тканинноподібний ріст (рис. 5-а), чого не можна сказати про ненаповнені зразки, де тканинноподібного росту не спостерігалося (рис. 5-б).

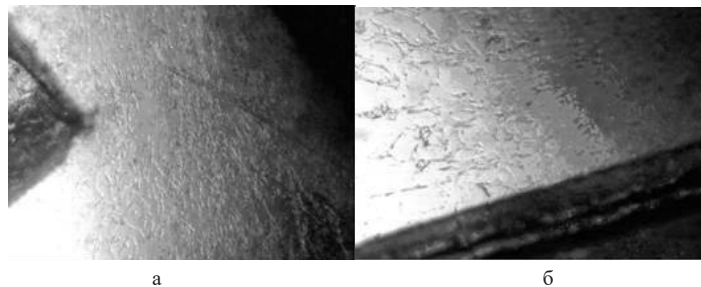


Рис. 5. Ріст культури тканин фіброblastів на 7 добу:  
а – ПУС з лізоцимом; б – ПУС без лізоциму

Проведені дослідження свідчать про те, що культура фібробластів, як у контролі, так і в дослідних зразках перебуває в стадії стабільного росту. Наявність дослідних зразків у живильному середовищі не впливало на ріст фібробластів, що свідчить про відсутність токсичної дії на культивовані клітини.

На 10 добу після експлантації у флаконах Карреля зі зразками наповненими лізоцимом збільшилася площа тканинноподібного росту клітин. Для зразків ПУС без лізоциму характерно збільшення клітинних елементів у більшості полігональної форми, але на відміну від контролю та полімерних зразків з лізоцимом, дегенеративні зміни виявлені в компактній і сіткоподібній зонах.

На 14 добу дослідження клітинна популяція вступає у фазу дегенерації, що виявляється в значній вакуолізації цитоплазми та зернистому, переродженні її в клітинах, як в контрольних, так і в дослідних флаконах ПУС без лізоциму. У флаконах з полімерними зразками з лізоцимом на 14 добу кількість клітин, що дегенерують, продовжує збільшуватися. Але, незважаючи на дегенерацію культури, у зоні мігруючих фібробластів присутні нові веретеноподібні та полігональні клітини.

Отже, методом культури тканин встановлено, що композиційні матеріали як наповнені, так і ненаповнені лізоцимом є біосумісними та нетоксичними.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, синтезовано ряд ПУС за різного відсоткового співвідношення кополімеру ВП-ВС та подовжувача макроланцюга ДАДФ. На їх основі отримано гідрофільні полімерні композиційні матеріали з лізоцимом. Методом ІЧ-спектроскопії встановлено, що іммобілізація лізоциму відбувається за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків (фізична іммобілізація). За даними фізико-механічних випробувань, введення лізоциму у склад ПУС приводить до покращення їхніх фізико-механічних властивостей. Встановлено, що зразки ПУС з фрагментами ВП-ВС у своїй структурі, наповнені лізоцимом, синтезовані за відсоткового співвідношення ДАДФ до кополімеру ВП-ВС 70:30 мають кращі фізико-механічні властивості в ряді ( $\sigma = 11,5$  МПа,  $\varepsilon = 76$  %). При введенні до складу ПУС ферменту спостерігається збільшення температури склування і зниження стрибка теплоємності, що зумовлено зниженням сегментальної рухливості макромолекул. Порівнявши питомі термограми синтезованих ПУС можна зробити висновок, що системи однофазні. Методом культури тканин встановлено, що композиційні матеріали як наповнені, так і ненаповнені лізоцимом є біосумісними та не токсичними. Для дослідних зразків із лізоцимом спостерігався більш активний ріст фібробластичних елементів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кивман Г.Я., Ляшенко Ю.В., Рабинович З.З. Гидроколлоидные покрытия – новое поколение средств для лечения ожогов // Хим.-фарм. журн. –1994. – Т. 28, № 9. – С.21–27.
2. Биологически активные перевязочные средства в комплексном лечении гнойно-некротических ран. Методические рекомендации № 2000/56. Под ред. В.Д. Федорова и И.М. Чижя. Москва, 2000. – 36 с.
3. Романовская И.И. Потенциальное раневое покрытие с трипсином, иммобилизованным в модифицированный поли-N-винилпирролидон // Доповіді НАН України. – 2009, №9. – С.182–187.



4. Кири Ю.Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды: Синтез и физико-химические свойства. М.: Наука, 1998. – 252 с.
5. Мазур Л.М. Синтез і дослідження нових поліуретанів, створення композицій на їх основі як носіїв лікарських речовин: Дисс. ... канд. хим. наук: 02.00.06. – К.: Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 2007. – 154с.
6. Рожнова Р.А., Карпенко О.С., Руденчик Т.В. Розробка плівкових матеріалів з декаметоксином на основі поліуретансечовин, які містять у своїй структурі фрагменти кополімеру N-вінілпіролідону з вініловим спиртом // Наукові записки НаУКМа. – 2016. – Т. 183. – С. 54–59.
7. Руденчик Т.В., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Кісельова Т.О. Плівкові матеріали з тіаулін фумаратом на основі поліуретансечовин з фрагментами кополімеру n-вінілпіролідону з вініловим спиртом у їх структурі // Вісник ОНУ. – 2016. – Т. 21, вип. №3(59). – С.67–76. [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3\(59\).79591](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3(59).79591)
8. Грегірчак Н.М., Антонюк М.М. Имобілізовані ферменти і клітини в біотехнології: Конспект лекцій для студ. спец. 8.05140101 «Промислова біотехнологія» ден. та заоч. форм навч. – К.: НУХТ, 2011. – 59с.
9. Zhang X., Sun M., Wang Q.Y. Screening condition for lysozyme production of marine bacteria S-12-86 //J. Fishery Sci.China – 2007. –Vol. 3, N 14 – P.425–429.
10. Мазур Л.М., Рожнова Р.А., Дроздова В.І., Галатенко Н.А. Синтез нової лікарської форми з амізоном на основі гідрольного блок-кополіуретану, який містить N-вінілпіролідону з вініловим спиртом // Полімерний журнал. – 2007. – Т. 29, № 1. – С.58–66.
11. Лебедєв С.В., Константінов Ю.Б., Галатенко Н.А., Яценко В.П., Рожнова Р.А., Максименко В.Б. Токсиколого-гігієнічні та доклінічні дослідження полімерних матеріалів і виробів на їх основі медичного призначення. – К.: Наук. думка, 2009. – 98с.
12. Патент України на корисну модель МПК<sup>8</sup> C08G 18/04 A61L 31/00. Діаміновмісні поліуретансечовини з фрагментами кополімеру N-вінілпіролідону з вініловим спиртом та 4,4'-діамінодіфенілметану як гідрофільні плівкотвірні матеріали медичного призначення. Руденчик Т.В., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Кісельова Т.О., Сташенко К.В. № 118477, Заявл.02.03.2017, опубл. 10.08.2017, Бюл. № 15.

Стаття надійшла до редакції 25.01.2018

**К. В. Сташенко, Т. В. Руденчик, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко,  
Л. Ф. Наражайко**

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України,  
Харьковское шоссе, 48, г. Киев, 02160, Україна,  
e-mail:katuwka2014@gmail.com

## **БИОСОВМЕСТИМЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ С ЛИЗОЦИМОМ НА ОСНОВЕ ПОЛИУРЕТАНСЕМОЧЕВИН С ФРАГМЕНТАМИ СОПОЛИМЕРА N-ВИНИЛПИРОЛИДОНА, ВИНИЛАЦЕТА И ВИНИЛОВЫМ СПИРТОМ**

Синтезирован ряд ПУМ, содержащие в своей структуре сополимер N-винилпирролидона с виниловым спиртом (ВП-ВС) при разном процентном соотношении 4,4'-диаминодифенілметану (ДАДФ) к ВП-ВС (30:70; 50:50; 70:30 ) и получен ряд композиционных материалов с лизоцимом (содержание лекарственного вещества 1 мас.%). По данным ИК-спектроскопических исследований иммобилизация лизоцима происходит за счет межмолекулярных водородных связей (физическая иммобилизация). Установлено, что образцы ПУМ наполненные лизоцимом, синтезированные по процентному соотношения ДАДФ к сополимеру ВП-ВС 70:30 имеют лучшие физико-механические свойства ( $\sigma = 11,5$  МПа,  $\varepsilon = 76\%$ ). Введение в состав ПУМ лизоцима приводит к повышению прочности при разрыве от 43% до 97%. Для композиций с лизоцимом наблюдается увеличение температуры стеклования и снижение скачка теплоемкости, что обусловлено снижением сегментальной подвижности макромолекул. Установлено, что исследуемые

системы являются однофазными. Методом культуры тканей установлено, что все композиционные материалы являются биосовместимыми и не токсичными.

**Ключевые слова:** полиуретанмочевины, сополимер N-винилпирролидона с винил ацетатом и виниловым спиртом, 4,4'-диаминодифенилметан, лизоцим, композиционные материалы.

**K. V. Stashenko, T. V. Rudenychk, R. A. Rozhnova, N. A. Galatenko,  
L. F. Narazhaiko**

Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine,  
Kharkivske shausse 48, Kyiv, 02160, Ukraine,  
e-mail:katuwka2014@gmail.com

## **BIOCOMPATIBLE COMPOSITES WITH LYSOZYME BASED ON POLYURETHANE UREA WITH N-VINYL PYRROLIDONE COPOLYMER FRAGMENTS, VINYL ACETATE AND VINYL ALCOHOL**

A series of PUS containing a N-vinylpyrrolidone-vinyl alcohol copolymer (VP-VA) copolymer with different percentages of 4,4'-diaminodiphenylmethane (DADF) to VP-VA (30:70; 50:50; 70:30) was synthesized. On the basis of synthesized PUS, a number of composite materials containing lysozyme (the content of the medicinal substance is 1 wt%) was obtained. According to IR spectroscopic studies, immobilization of lysozyme occurs due to intermolecular hydrogen bonds (physical immobilization). Variation of the content of copolymer VP-VA in the structure of the received PUS causes changes of physical-mechanical properties. It was established that with decrease in the amount of VP-VS copolymer in the structure of PUS there is an increase in strength and relative elongation at break. It was established that samples of PUS with fragments of VP-VS in their structure, filled with lysozyme, synthesized by the percentage ratio of DADF to copolymer VP-VS 70:30 have the best physical and mechanical properties in a series ( $\sigma = 11,5$  MPa,  $\varepsilon = 76\%$ ). The introduction of the resulting polymer materials lysozyme leads to increased strength at break from 43% to 97%. The thermophysical properties of PUS depend on the presence of lysozyme in their composition. When introducing into the structure PUS of the enzyme, an increase in the glass transition temperature and a decrease in the heat capacity jump due to the decrease in the segmental mobility of the macromolecules. It is established that the studied systems are single-phase. The method of culture of tissues was founding that all composite materials are biocompatible and non-toxic. For experimental samples with lysozyme, more active growth of fibroblast cells was observed.

**Keywords:** polyurethane urea, copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol, 4,4'-diaminodiphenylmethane, lysozyme, composite materials.

## **REFERENCES**

1. Kyvman H.Ya., Liashenko Yu.V., Rabynovych Z.Z. *Gidrokolloidnye pokrytiia – novoe pokolenie sredstv dlia lecheniia ozhogov* [Hydrocolloid coatings – a new generation of burn treatment products]. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 1994, vol. 28, no 9, pp. 21-27. (in Russian)
2. *Biologicheski aktivnye pereviazochnye sredstva v kompleksnom lechenii gnoyno-nekroticheskikh ran. Metodicheskie rekomendatsii No №2000/56.* [Biologically active dressings in the complex treatment of purulent-necrotic wounds. Methodical recommendations №2000/56.] Pod red.Fedorova V.D. i Chyzyha I.M., Moskva, 2000, 36 p. (in Russian)

3. Romanovskaia I.I. *Potentsial'noe ranevoe pokrytie s trypsinom, immobilizovanyim v modifitsirovannyi poli-N-vinilpirrolidon* [Potential wound coating with trypsin immobilized in modified poly-N-vinylpyrrolidone]. *Dopovidi NAN Ukrainy*, 2009, no 9, pp. 182–187. (in Russian)
4. Kyrsh Yu.E. *Poli-N-vinilpirrolidon i drugie poli-N-vinilamidy: Sistez i fiziko-khimicheskie svoystva* [Poly-N-vinylpyrrolidone and other poly-N-vinyl amides: Synthesis and physico-chemical properties]. M.: Nauka, 1998, 252 p. (in Russian).
5. Mazur L.M. *Syntezi i doslidzhennia novykh poliuretanih, stvorennia kompozitsii na yikh osnovi yak nosiiv likars'koi rechovyny* [Synthesis and research of new polyurethanes, creation of compositions on their basis as carriers of medicinal substances]: Dyss. ... kand. khim. nauk: 02.00.06., Kiev, Instytut khimii vysokomolekuliarnykh spolkuk NAN Ukrainy, 2007, 154 p. (in Ukrainian)
6. Rozhnova R.A., Karpenko O.S., Rudenychuk T.V. *Rozrobka plivkovykh materialiv z dekametoksynom na osnovi poliuretansechovyn, yaki mistiat' u svoii strukturi frahmenty N-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom* [The development of film materials with decamethoxine is based on polyurethane urea, which contains in its structure fractions of copolymer N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol]. *Naukovi zapyski NaUKMa*, 2016, vol. 183, pp. 54-59. (in Ukrainian).
7. Rudenychuk T.V., Rozhnova RA, Galatenko N.A., Kiseleva T.O. *Plivkovimaterialy z tiamulin fumaratom na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru N-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom yikh strukturi* [Film materials with tiamulin fumarate on the basis of polyurethane urea with copolymer fragments of N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol in their structure]. *Visn. Odes. nac. univ., Him.*, 2016, vol. 21, no 3, pp. 67-76. [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3\(59\).79591](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3(59).79591) (in Ukrainian)
8. Gregirchak N.M., Antoniuk M.M. *Immobilizovani fermenty i klityny v biotekhnologii: Konspekt lektsii dly stud. spets 8.05140101 "Promuslova biotekhnogii"* den. ta zaoch. form navch. [Immobilized enzymes and cells in biotechnology: A summary of lectures for students. special "Industrial Biotechnology" den. and behind forms of teaching]. K.: NUKHT, 2011, 59 p. (in Ukrainian)
9. Zhang X., Sun M., Wang Q.Y. *Screening condition for lysozyme production of marine bacteria S-12-86*. *J. Fishery Sci. China* . 2007, vol. 3, no 14, pp.425–429.
10. Mazur L.M., Rozhnova R.A., Drozdova V.I., Galatenko N.A. *Syntezi novoi likarskoi formy z amizonom na osnovi hidrofylnoho blok-kopolimeru, yakyi mistyt N-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom* [Synthesis of a new medical form with amisonon the basis of a hydrolysis block-copolymer containing N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol]. *Polymer Journal*, 2007, vol. 29, no 1, pp.58-66. (in Ukrainian)
11. Lebediev Ye.V., Konstantinov Yu.B., Galatenko N.A., Yatsenko V.P., Rozhnova R.A., Maksymenko V.B. *Toksykologo-higienichni ta doklinichni doslidzhennia polimernykh materialiv i vyrobiv na yikh osnovi medychnoho pryznachennia* [Toxicologic-hygienic and preclinical studies of polymeric materials and products based on their medical purpose]. Kiev, Nauk. dumka, 2009, 98p. (in Ukrainian)
12. Patent of Ukraine for utility model МПК<sup>8</sup> C08G 18/04 A61L 31/00. *Diaminomisni poliuretansechovyny z frahmentamy kopolimery N-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom ta 4,4'-diaminofenilmetanu yak hidrofylni plivkotvirni materialy medychnoho pryznachennia*. [Diamin-containing polyurethane urea with N-vinylpyrrolidone copolymer fragments with vinyl alcohol and 4,4'-diaminodiphenylmethane as hydrophilic film-forming materials for medical purposes]. Rudenychuk T.V., Rozhnova R.A., Galatenko N.A., Kiselyova T.O., Stashenko K.V. № 118477, appl. 02.03.2017, publ. 10.08.2017. (in Ukrainian).