



<https://doi.org/10.15407/polymerj.43.03.204>  
УДК 678.664

**Т.В. ВІСЛОГУЗОВА,**

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,  
e-mail: rudenchyk@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-4071-4329

**Р.А. РОЖНОВА,**

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,  
e-mail: rozhnovarita@gmail.com  
ORCID: 0000-0003-3284-3435

**Н.А. ГАЛАТЕНКО,**

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,  
e-mail: politoks@merlin.net.ua  
ORCID: 0000-0002-5961-5750

## **РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ПІНОПОЛІУРЕТАНОВИХ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ ІЗ ЛІЗОЦИМОМ**

Отримано ряд пінополіуретанових (ППУ) композиційних матеріалів з лізоцимом різної концентрації (1, 3 та 5 % мас.). Методом ІЧ-спектроскопії встановлено, що іммобілізація лізоциму відбувається за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків. За результатами фізико-механічних випробувань адгезійна міцність пінополіуретанових композитів з лізоцимом лежить у межах 0,82–1,16 МПа. Введення лізоциму до складу пінополіуретанів і збільшення його кількості спричиняє зниження значень адгезійної міцності на 18,1–29,3 %. За даними ДСК досліджувані системи однофазні з температурою склування у діапазоні від мінус 49,20 до мінус 49,86 °С. Введення лізоциму в композицію спричиняє підвищення стрибка теплоємності при склуванні, що може бути пов'язано зі зниженням щільності пакування макроланцюгів, у результаті чого зростає величина вільного об'єму, що приводить до підвищення молекулярної рухливості. За результатами аналізування мікрофотографій ТОМ встановлено, що наявність лізоциму в складі композиційних матеріалів приводить до зменшення пористості, збільшення кількості пор діаметром до 300 мкм, що становить 76,7–82,4 % (тоді як для ППУ – 69,5 %) і відсутності пор діаметром більшим 990 мкм. Термогравіметричні характеристики свідчать про термостійкість синтезованих ППУ до температури 179,95 °С, що дає можливість проведення сухої стерилізації зразків без зміни їхніх характеристик і робить їх перспективними матеріалами, які можуть бути використані в медичній практиці як полімерні композиції для лікування ран та опіків.

**Ключові слова:** пінополіуретан, композиційний матеріал, лізоцим, пористість.

### **Вступ**

Сучасна медицина висуває високі вимоги до «ідеального» покриття для лікування ран, опіків і виразок [1]. Пов'язка повинна відповідати таким вимогам: підтримувати необхідну

вологість у рані; видаляти надлишок ексудату; бути непроникною для бактерій в обох напрямках (як до рани, так і з неї); бути газопроникною; механічні властивості мають забезпечувати не тільки комфорт при накладенні, фіксації та носінні, запобігаючи подальшим

Цитування: Віслогузова Т.В., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А. Розробка та дослідження пінополіуретанових композиційних матеріалів з лізоцимом. *Полімерний журнал*. 2021. 43, № 3. С. 204—213. <https://doi.org/10.15407/polymerj.43.03.204>

пошкодженням рани, мінімально можливе повторне нанесення пов'язки, але і відсутність травм під час зняття покриття; бути нетоксичною, гіпоалергенною, мати тривалий термін зберігання та низьку вартість.

Пінополіуретани (ППУ) є одними з найбільш застосовуваних матеріалів у медицині завдяки біосумісності, яка зумовлена подібністю структури уретанової та амідної групи білкової молекули. Найбільш поширені області їх використання – перев'язувальні матеріали для закриття ран [2], клейові композиції для використання в абдомінальній [3], щелепно-лицевій хірургії [4], травматології для пластики дефектів м'яких і кісткових тканин [5].

Медичний клей – це композиційний матеріал на основі сітчастого поліуретану, використовується для пластики дефектів, а також склеювання або фіксації м'яких тканин і кісток. Клей являє собою трикомпонентну систему, яка складається з олігоетеруретандіізоціанату, прискорювача полімеризації і фолієвої кислоти та характеризується високою біосумісністю й адгезією до тканин, гідрофільністю, здатністю до біодеградації. Композиція полімеризується за умов операційної рани з утворенням еластичної дрібнопористої губки, що не деформує навколишні тканини і не порушує їх функціональної активності, утворює клейовий шов, який міцно утримує тканини на всіх етапах загоєння рани, стимулює регенераторні процеси [6].

ППУ «Локус» [1] на основі поліольного та ізоціанатного компонентів – універсальний і ефективний препарат для місцевого лікування пошкоджень шкіри різної етіології. Використання «Локуса» при лікуванні опіків другого ступеня, пролежнів, трофічних виразок і хронічних ран сприяло скороченню часу їх загоєння. За результатами клінічних випробувань було помічено поєднання антимікробних властивостей, високої поглинальної здатності, захисту від травмування і вторинної інфекції, а також високої адгезії до навколишніх тканин. Також потрібно відзначити газо- і паропроникність, просте, швидке і безболісне видалення, а також надійну фіксацію пов'язки на здоровій шкірі навколо рани, що не вимагає додаткової опори для покриття.

ППУ, синтезовані на основі олігоетерполіолу та суміші ізомерів дифенілметандіізоціанату, з

наночастинками беміту [7], що використовуються, як перев'язувальний матеріал з антисептичними властивостями для закриття ран різної етіології, мають ряд вигідних властивостей. По-перше, пінополіуретанове покриття отримують і наносять на рану безпосередньо перед застосуванням, що забезпечує стерильне закриття ран. По-друге, покриття має відкрити пористу структуру, що забезпечує відмінні абсорбційні властивості перев'язувального матеріалу для поглинання виділень із рани. По-третє, покриття легко накласти на всю поверхню рани незалежно від її конфігурації та розмірів.

Розроблені авторами [8] ППУ з циклосерином на основі діізоціанатного форполімеру та олігооксипропіленфумарату біосумісні й можуть бути використані для лікування ран та опіків. За результатами досліджень введення до полімерної матриці олігооксипропіленфумарату та циклосерину сприяє утворенню більш пористої структури композиційного матеріалу.

Завдяки введенню біологічно активних або лікарських речовин до складу полімерної матриці, зокрема пінополіуретанової, досягається значне підвищення результату лікування. Імобілізація на полімерній матриці бактерицидних препаратів забезпечує боротьбу з мікробною інфекцією рани. З цього погляду перспективною біологічно активною речовиною є лізоцим.

Лізоцим – один із важливих ферментів, широко розповсюджений у різних біологічних системах (тваринах, рослинах, мікроорганізмах). Його часто вважають природним антисептиком [9]. Найбагатшим джерелом лізоциму є білок курячого яйця, в якому фермент становить близько 3,5 % загальної кількості білків [10–12]. За хімічним складом це глобулярний білок, що являє собою єдиний поліпептидний ланцюг, який складається зі 129 амінокислотних залишків. Молекула лізоциму зшита чотирма дисульфідними зв'язками [10–13]. Лізоцим яєчного білка – це фермент класу гідролаз, що характеризується широким спектром біологічної активності (бактеріостатичної, бактеріолітичної та бактерицидної) [12].

Лізоцим проявляє бактеріолітичну дію завдяки здатності руйнувати клітинну стінку бактерій за рахунок гідролізу 1,4- $\beta$ -зв'язків

між залишками N-ацетилмурамової кислоти і N-ацетил-D-глюкозаміну у складі ланцюга пептидоглікану, а також між залишками N-ацетил-D-глюкозаміну в хітодекстринах [9, 14, 15]. Лізоцим активний щодо грам-позитивних і грам-негативних бактерій та грибів [9].

Крім антибактеріальних властивостей препарат має здатність стимулювати неспецифічну реактивність організму, проявляти проти-запальну і муколітичну дію. Лізоцим застосовують при лікуванні хронічних септичних станів і гнійних процесів, при опіках, обмороженнях, кон'юнктивітах, ерозіях рогівки, афтозних стоматитах та інших інфекційних захворюваннях [16].

Відомі роботи щодо іммобілізації лізоциму на полімерних матрицях. Так, авторами [17] отримані гідрогелеві полімерні плівки на основі полівінілового спирту з пролонгованим вивільненням ферменту, високою гідролітичною активністю, а також антимікробною дією. За результатами досліджень іммобілізований лізоцим вільно дифундує з полімерної матриці, проявляє виражену антимікробну дію щодо тест-штамів *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

Пов'язка для лікування ран, яка являє собою плівку з лізоцимом, синтезовану на основі полівінілового спирту, хлоргексидин біглюконату і тетраборат натрію, має велику антимікробну активність, низьку адсорбувальну здатність, задовільну пластичність, високу міцність, формостійкість при тривалій експозиції (до 10 діб) на поверхні рани, дренажні властивості та ізохроматизм [18]. Медико-біологічні дослідження продемонстрували її виражену антисептичну дію, скорочення часу загоєння та ефективне пригнічення запального процесу при лікуванні інфікованих ран [19].

Відомі композиційні матеріали з лізоцимом на основі поліуретансечовин із фрагментами кополімеру полі(N-вінілпіролідон-вінілацетат-вініловий спирт) [20, 21], із фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) [22], які здатні до пролонгованого вивільнення антибактеріального препарату лізоциму та запропоновані як покриття для ран і опіків, що сприятимуть їх загоєнню [23, 24].

Отже, використання лізоциму як біологічно активної речовини для іммобілізації полімерної матриці відкриває перспективу отримання нових біологічно активних полімерних матеріалів медичного призначення.

Тому метою роботи є розробка та дослідження властивостей пінополіуретанових композиційних матеріалів з лізоцимом як перспективних матеріалів для лікування ран та опіків з гідролітичною й антимікробною дією.

## Експериментальна частина

**Матеріали.** Поліоксипропіленгліколь (ПОПГ) („Rokopol” Польща) ММ 2000 сушили за залишкового тиску 1–3 мм рт. ст. і температури  $80 \pm 5$  °С у потоці сухого аргону протягом 8 год. безпосередньо перед синтезом. Вміст вологи за Фішером не перевищував 0,01–0,02 %.

2,4-;2,6-толуїлендіізоціанат (ТДІ, 80/20)  $C_9H_6N_2O_2$  (Merck, Німеччина) (ММ = 174,16;  $\rho = 1,22$  г/см<sup>3</sup>;  $T_{кип} = 133 \pm 1$  °С;  $n_D^{20} = 1,5678$ ) – суміш ізомерів 2,4- та 2,6- за співвідношення 80/20, очищували перегонкою в вакуумі за залишкового тиску 0,67 кПа,  $T_{кип} = 100 \pm 1$  °С. Використовували свіжоперегнаним.

2,4,6-трис(диметиламінометил)фенол (УП-606/2)  $C_{15}H_{27}N_3O$  (Sigma-Aldrich, США) (ММ = 265,39) застосовували без додаткового очищення.

Лізоцим (Merck, Німеччина) (ММ = 14000) із ячного білка використовували без додаткового очищення.

**Отримання пінополіуретанів.** Діізоціанатний форполімер (ДФП) синтезували на основі ПОПГ і ТДІ за мольного співвідношення компонентів 1,00:3,68. У тригорлий реактор, забезпечений механічною мішалкою, ділильною лійкою та барботером інертного газу (аргону) поміщали 24,27 % мас. (0,211 моль) ТДІ. З ділильної лійки краплями додавали 75,73 % мас. (0,057 моль) ПОПГ при інтенсивному перемішуванні протягом 1 год. за кімнатної температури. Потім реактор поміщали в масляну баню, нагріту до температури  $60 \pm 5$  °С при безперервному перемішуванні, періодично відбираючи проби для визначення вмісту вільних NCO-груп (визначали титриметричним методом). Реакційну суміш витримували доти, доки ізоціанатне число не досягло значення 7,3 %.

Пінополіуретани отримували шляхом послідовного механічного змішування на тефлонній підкладці ДФП і каталізатора УП-606/2 за кімнатної температури за масового співвідношення 1,000:0,006. Тверднення реакційної маси відбувалося за кімнатної температури протягом 24 год.

Отримання пінополіуретанових композиційних матеріалів з лізоцимом. ДФП синтезували на основі ПОПГ і ТДІ за мольного співвідношення компонентів 1,00:2,76 за методикою, описаною вище. Пінополіуретанові композиційні матеріали отримували послідовним додаванням 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму до ДФП та УП 606/2 (ДФП:УП-606/2 = 1,000:0,006) при перемішуванні протягом 1–2 хв. Тверднення композиційного матеріалу відбувалось за кімнатної температури протягом 24 год.

Методи дослідження. ІЧ-спектри поглинання в області 650–4000  $\text{cm}^{-1}$  були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ) із використанням призми-трапеції кристала алмазу (число відображень  $N = 1$ , кут падіння  $\varphi = 39^\circ$ ). Віднесення смуг поглинання зроблено відповідно до [25].

Адгезійну міцність визначали на розривній машині Р5 відповідно до [26]. Швидкість переміщення активного затискача становила 10 мм/хв. Адгезійні з'єднання готували, використовуючи як субстрати сталеві «грибки».

Теплофізичні властивості (температура склування ( $T_g$ ), зміна теплоємності за температури склування ( $\Delta C_p$ )) вивчали методом ДСК. Дослідження проводили в інтервалі температур від -90 до +200  $^\circ\text{C}$  (прилад TA Instrument Q2000) зі швидкістю нагрівання 20  $^\circ\text{C}/\text{хв}$ , в атмосфері азоту. Для уникнення впливу термічної та механічної передісторії матеріалу проводили 2 нагрівання.

Термогравіметричні характеристики (температуру розкладання ( $T_{\text{розкл}}$ ), втрату маси за  $T_{\text{розкл}}$ ) вивчали методом ТГА. Дослідження проводили в діапазоні температур від 20 до 700  $^\circ\text{C}$  (прилад TA Instrument Q50) зі швидкістю нагрівання 20  $^\circ\text{C}/\text{хв}$ , в атмосфері повітря.

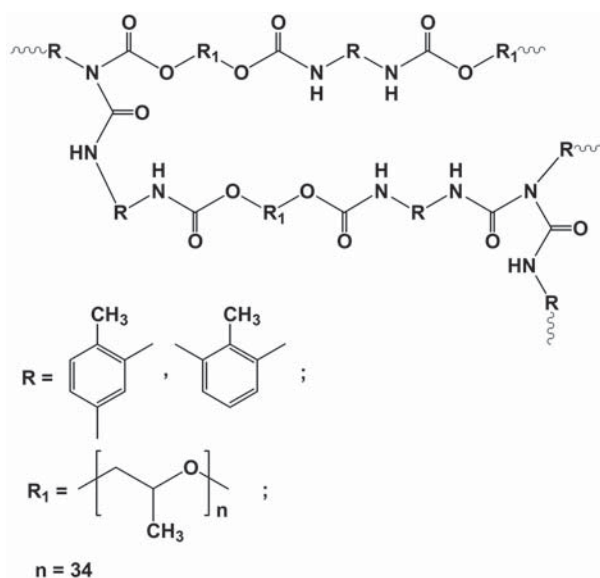
Морфологію зразків вивчали методом трансмісійної оптичної мікроскопії (ТОМ). За допомогою мікроскопа Carl Zeiss Primo Star при відносному збільшенні 1000 реєстрували

зображення поперечного зрізу зразка. Характеристики пористої структури полімерних пін визначали за мікрофотографіями зразків за допомогою програми ImageJ. Розрахунок загальної пористості проводили на основі площі, яку займають пори.

## Результати дослідження та їх обговорення

Для вибору полімерного матеріалу з оптимальними властивостями було отримано ППУ, наповнені 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму.

Отримані ППУ являють собою сітчастий полімер загальної формули:



Для підтвердження перебігу реакції утворення ППУ проведено ІЧ-спектроскопічні дослідження ДФП та отриманого на його основі

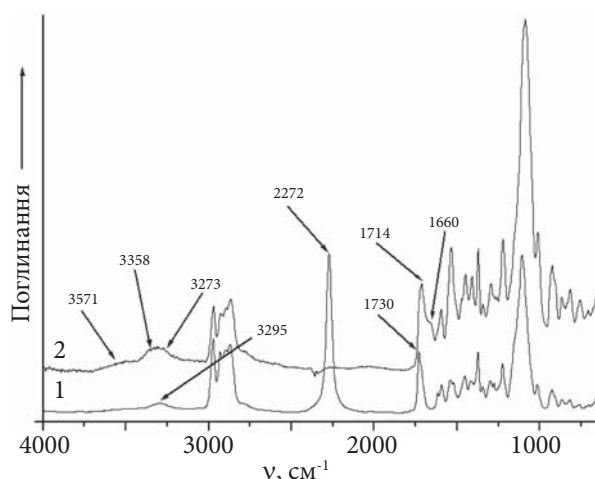


Рис. 1. ІЧ-спектри: 1 – ДФП; 2 – ППУ

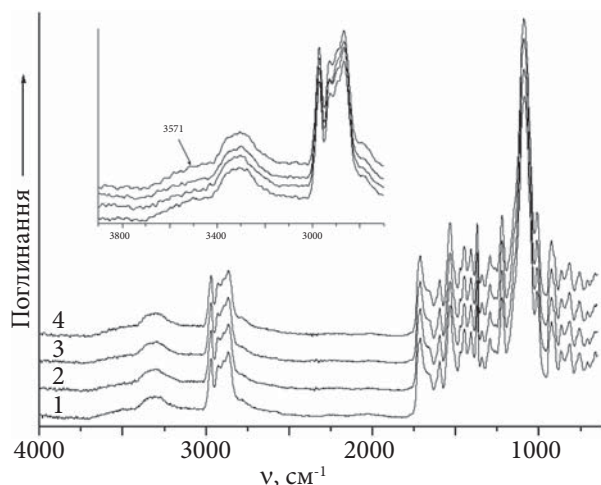


Рис. 2. ІЧ-спектри ППУ (1) і ППУ композитів з 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму (2–4 відповідно)

ППУ. На спектрі ДФП валентні коливання  $\text{C}=\text{O}$  уретанової групи подані смугою поглинання з максимумом  $1730\text{ см}^{-1}$  (рис. 1, крива 1). На спектрі синтезованого ППУ спостерігається зміщення цієї смуги в бік менших частот –  $1714\text{ см}^{-1}$ , що свідчить про появу більш зв'язаних водневими зв'язками  $\text{C}=\text{O}$ -груп і появу плеча з максимумом  $1660\text{ см}^{-1}$ , що свідчить про утворення сечовинних груп (рис. 1, крива 2). Також відсутня смуга поглинання  $\text{NCO}$ -груп ДФП з максимумом  $2272\text{ см}^{-1}$  на спектрі ППУ, що підтверджує повну конверсію  $\text{NCO}$ -груп у результаті реакції.

Таблиця 1. Адгезійна міцність ППУ та ППУ композитів з лізоцимом

Зразки	Вміст лізоциму, % мас.	$\sigma$ , МПа
ППУ	–	1,16
ППУ+лізоцим	1	0,95
ППУ+лізоцим	3	0,95
ППУ+лізоцим	5	0,82

Таблиця 2. Термогравіметричні характеристики ППУ та ППУ з лізоцимом

Зразки	Вміст лізоциму, % мас.	$T_{\text{поч. розкл.}}$ , °С	$T_{\text{макс. шв. розкл.}}$ , °С	Втрата маси за $T_{\text{поч. розкл.}}$ , %
ППУ	–	196,39	300,89	0,62
ППУ+лізоцим	1	191,13	299,76	0,70
ППУ+лізоцим	3	195,73	302,24	0,78
ППУ+лізоцим	5	179,95	310,72	1,08

В частотному інтервалі спектра  $2800\text{--}3700\text{ см}^{-1}$  валентні коливання  $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$  ДФП подані смугою поглинання з максимумом  $3295\text{ см}^{-1}$  (рис. 1, крива 1). На спектрі синтезованого ППУ валентні коливання  $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$  проявляються широкою смугою з двома максимумами  $3273$  та  $3358\text{ см}^{-1}$  (рис. 1, крива 2). Крім того, спостерігається підвищення інтенсивності смуг поглинання валентних коливань  $\text{NH}$ -груп:  $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$  ( $3273$  та  $3358\text{ см}^{-1}$ ) і  $\nu_{\text{NH-вільн.}}$  ( $3571\text{ см}^{-1}$ ).

Для досліджень впливу лізоциму на структуру синтезованих матеріалів зняті ІЧ-спектри ППУ та пінополіуретанових композиційних матеріалів на їх основі, наповнених різною кількістю ферменту.

При порівнянні ІЧ-спектрів ППУ (рис. 2, крива 1) і ППУ, наповнених лізоцимом (рис. 2, криві 2–4), підтверджено відсутність нових смуг поглинання на спектрах композиційних матеріалів з лізоцимом, що дає змогу дійти висновку про відсутність хімічної взаємодії ферменту з полімерною матрицею.

Наповнення ППУ 1 чи 3 % мас. лізоциму дуже незначне для виявлення змін. На спектрі ППУ з 5 % мас. лізоциму спостерігається незначне підвищення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{NH-вільн.}}$ , що свідчить про збільшення кількості  $\text{NH}$ -груп вільних і слабо зв'язаних водневими зв'язками. Тому можна говорити про фізичну іммобілізацію лізоциму за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків.

За результатами фізико-механічних випробувань значення адгезійної міцності лежать у діапазоні  $0,82\text{--}1,16$  МПа (табл. 1) і дещо залежать від наявності лізоциму в складі композиційних матеріалів. При введенні лізоциму до складу ППУ та підвищенні його вмісту спостерігається деяке зниження значень адгезійної міцності на  $18,1\%$  для ППУ, наповнених 1 і  $3\%$  мас. лізоциму, а також на  $29,3\%$  для ППУ, що містять  $5\%$  мас. лізоциму. Це, ймовірно, пов'язано зі зниженням щільності пакування макроланцюгів пінополіуретанової матриці.

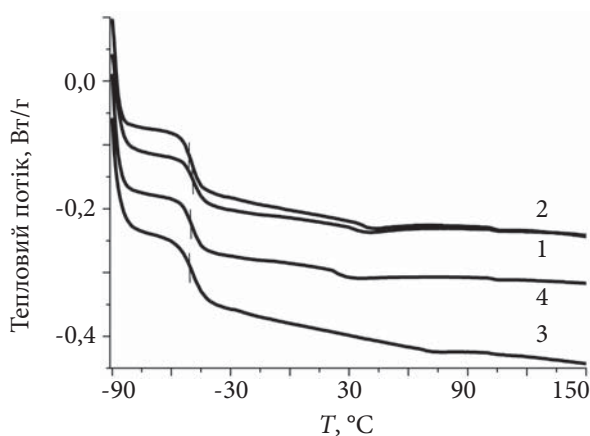


Рис. 3. Типові термограми: ППУ (1) і ППУ композитів (2 прогрівання) з вмістом 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму (2–4)

Враховуючи те, що зміна складу композиційного матеріалу може привести до зміни теплофізичних властивостей матеріалів, досліджували зразки композитів, які відрізняються між собою вмістом лізоциму (0, 1, 3 та 5 % мас.).

За даними ТГА температура початку розкладання ( $T_{\text{поч. розкл.}}$ ) синтезованих ППУ лежить у діапазоні 179,95–196,39 °C (табл. 2) і супроводжується незначною втратою маси (0,62–1,08 %). Втрата маси зразків за  $T_{\text{поч. розкл.}}$  залежить від наявності та концентрації лізоциму у складі ППУ. Введення лізоциму та підвищення його вмісту спричиняє незначне підвищення втрати маси.

$T_{\text{поч. розкл.}}$  при введенні лізоциму до складу ППУ знижується, а її залежність від концентрації ферменту має нелінійний характер. Зі збільшенням концентрації лізоциму до 3 % мас. відбувається підвищення  $T_{\text{поч. розкл.}}$ , а наповнення полімерної основи 5 % мас. лізоциму сприяє її зниженню.

Розкладання зразків відбувається одностадійно. Температура максимальної швидкості

розкладання лежить у межах 299,76–310,72 °C. Зі збільшенням концентрації лізоциму  $T_{\text{макс. шв. розкл.}}$  поступово підвищується.

За даними ДСК температурні залежності теплоємності ППУ та ППУ з лізоцимом мають один і той же характер (рис. 3). На термограмах усіх досліджуваних ППУ спостерігали один перехід склування і, відповідно, одну температуру склування ( $T_c$ ). Отже, досліджувані системи однофазні.

Значення  $T_c$  2-го прогрівання досліджуваних матеріалів лежить у діапазоні від -49,20 до -49,86 °C (табл. 3) та не залежить від вмісту лізоциму у їх складі.

Введення лізоциму до складу ППУ спричиняє підвищення  $\Delta C_p$  при склуванні як при першому, так і при другому прогріванні (табл. 3). Ймовірно, введення лізоциму до складу ППУ приводить до зниження щільності пакування макроланцюгів, у результаті чого зростає величина вільного об'єму, що приводить до підвищення молекулярної рухливості.

Синтезовані ППУ термостійкі до температури 179,95 °C, що робить можливим проведення сухої стерилізації зразків без зміни їхніх характеристик.

Аналіз мікрофотографій ТОМ дав кількісну інформацію про діапазон розмірів (діаметрів) пор, розподіл пор за розмірами та пористість. Досліджувані ППУ композиційні матеріали мають мікропористу структуру, що залежить від вмісту наповнювача у їх складі. Більшість пор мають овальну форму (рис. 4).

Для ППУ виявлено пори діаметром 69,9–1519,0 мкм (табл. 4). При розгляді гістограм розподілу пор за розмірами очевидно, що основна маса пор (69,5 %) мають діаметр до 300 мкм. Були виявлені одиничні пори великого діаметра, а саме 997,1; 1054,7 і 1519,0 мкм (рис. 5).

Таблиця 3. Теплофізичні властивості ППУ та ППУ з лізоцимом

Зразки	Вміст лізоциму, % мас.	$T_c$ , °C		$\Delta C_p$ , Дж/(г·°C)	
		1 прогрівання	2 прогрівання	1 прогрівання	2 прогрівання
ППУ	–	-47,10	-49,20	0,2005	0,2135
ППУ+лізоцим	1	-50,44	-49,48	0,2502	0,2669
ППУ+лізоцим	3	-48,39	-49,23	0,2807	0,2894
ППУ+лізоцим	5	-48,30	-49,86	0,2104	0,2385

Таблиця 4. Характеристики пористості ППУ та ППУ композитів з лізоцимом

Зразки	Вміст лізоциму, % мас.	Діаметр, мкм	Пористість, %
ППУ	–	69,9–1519,0	61,5
ППУ+лізоцим	1	55,3–990,0	50,0
ППУ+лізоцим	3	47,6–958,9	37,1
ППУ+лізоцим	5	41,5–906,8	40,5

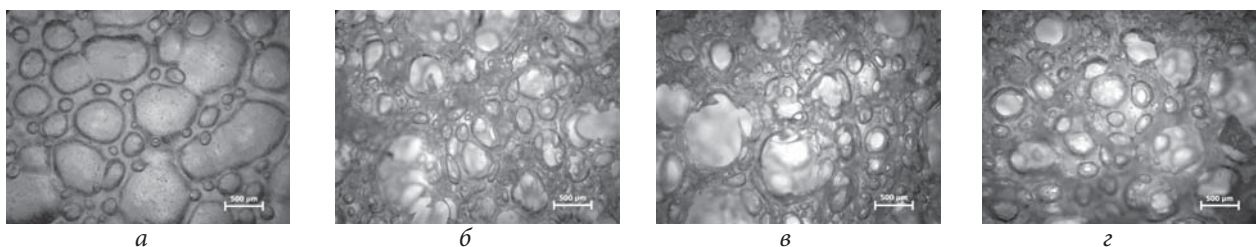


Рис. 4. Мікрофотографії ТОМ зразків: ППУ (а) і ППУ композитів із вмістом 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму (б–г відповідно)

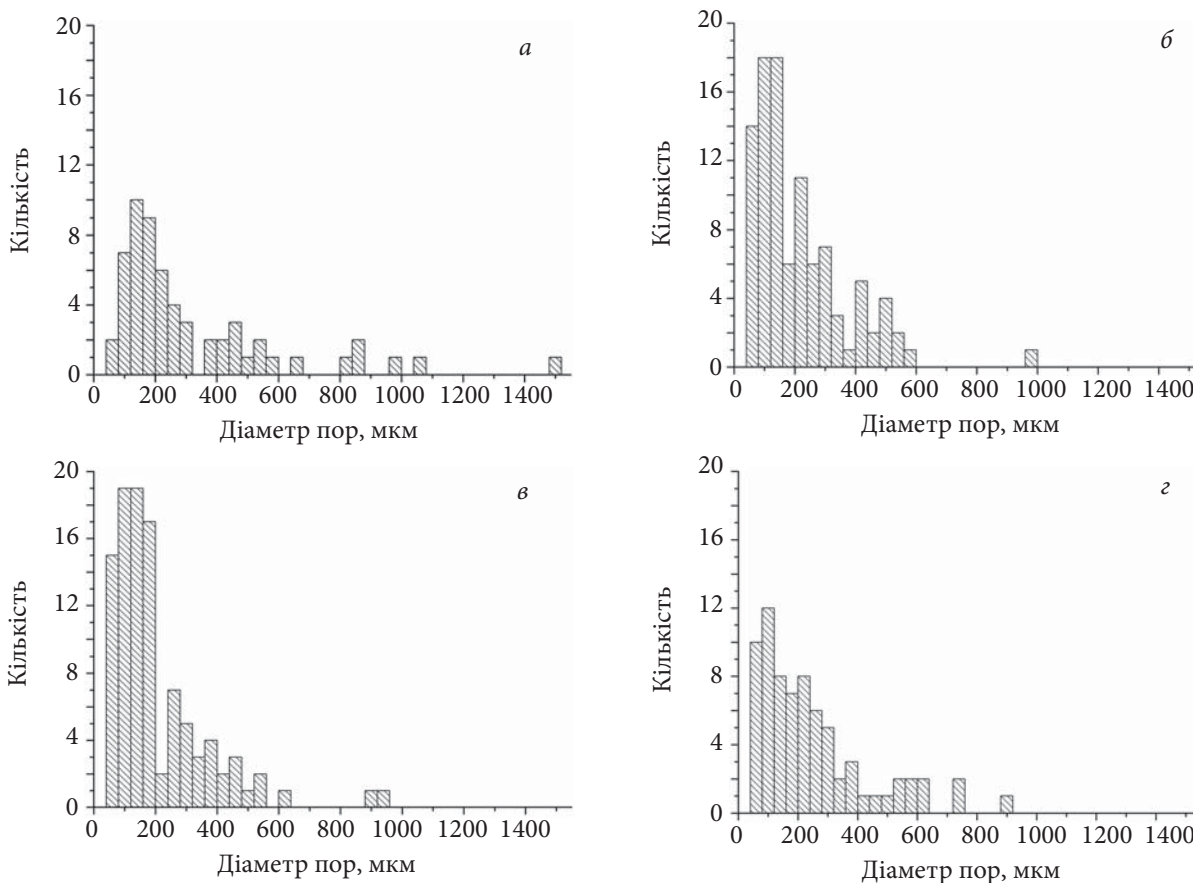


Рис. 5. Гістограми розподілу пор за розмірами: ППУ (а) та ППУ композитів із вмістом 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму (б–г відповідно)

Для ППУ композитів, що містять у своєму складі 1 % мас. лізоциму, виявлено пори діаметром 55,3–990,0 мкм (табл. 4), при цьому основна

маса пор (80,8 %) мають діаметр до 300 мкм. Виявлені одиничні пори великого діаметра – 990 мкм (рис. 5).

Для ППУ композитів, що містять у своєму складі 3 % мас. лізоциму, виявлено пори діаметром 47,6–958,9 мкм (табл. 4), при цьому основна маса пор (82,4 %) мають діаметр до 300 мкм. Були виявлені одиничні пори великого діаметра – 895,0 і 958,9 мкм (рис. 5).

Для ППУ композитів, що містять у своєму складі 5 % мас. лізоциму, виявлено пори діаметром 41,5–906,8 мкм (табл. 4), при цьому основна маса пор (76,7 %) мають діаметр до 300 мкм. Виявлені одиничні пори великого діаметра – 906,8 мкм (рис. 5).

Пористість ППУ становить 61,5 %, тоді як ППУ композиційних матеріалів з лізоцимом – 37,1–50,0 % (табл. 4). Тобто введення лізоциму до складу ППУ спричиняє зниження пористості, що залежить від концентрації наповнювача.

Отже, аналіз мікрофотографій ТОМ дав можливість оцінити діаметр пор, розподіл пор за розмірами та величину пористості, а також встановити, що характеристики пористості залежать від вмісту та концентрації лізоциму в складі ППУ. При розгляді гістограм розподілу пор за розмірами очевидно, що наявність лізоциму в композиції приводить до зменшення проценту пористості та збільшення кількості пор із діаметром до 300 мкм, що становить 76,7–82,4 % (тоді як для ППУ – 69,5 %), спостерігається відсутність пор діаметром понад 990 мкм. При цьому підвищення вмісту лізоциму приводить до поступового зменшення як мінімального, так і максимального розміру пор. Тому можна дійти висновку, що введення лізоциму до складу ППУ спричиняє збільшення кількості пор меншого діаметра та зниження пористості. Композиція з 1 % мас. лізоциму має кращі показники пористості.

Отриманий результат є позитивним ефектом, оскільки, по-перше, збільшується площа контакту композит – поверхня рани, по-друге, наявність більшої кількості малих за розміром пор зменшує вірогідність перебігу гострого за-

пального процесу за рахунок зменшення ексудації навколо полімеру.

Отже, отримані ППУ композити з лізоцимом мають пористу структуру з розвинутою поверхнею, яка здатна стимулювати процеси тканинної регенерації в місці імплантації [3, 4].

## Висновки

На основі діізоціанатного форполімеру отримано ряд ППУ композиційних матеріалів з вмістом 1, 3 чи 5 % мас. лізоциму. Методом ІЧ-спектроскопії встановлено, що іммобілізація лізоциму відбувається за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків (фізична іммобілізація).

Досліджено вплив лізоциму на фізико-механічні та теплофізичні властивості отриманих матеріалів і показано, що введення лізоциму до складу ППУ спричиняє зниження значень адгезійної міцності та сприяє підвищенню  $\Delta C_p$  при склуванні, що може бути пов'язано зі зниженням щільності пакування макроланцюгів і підвищенням молекулярної рухливості. За результатами випробувань синтезовані ППУ термостійкі до температури 179,95 °С, що дає можливість проведення сухої стерилізації зразків без зміни їхніх характеристик.

Отримані ППУ композити характеризуються мікропористою структурою, яка залежить від вмісту наповнювача у їх складі. Встановлено, що наявність лізоциму в композитах приводить до зменшення пористості та збільшення кількості пор меншого діаметра. Згідно з отриманими результатами, композиція з 1 % мас. лізоциму має кращі показники пористості.

Отже, ППУ з лізоцимом – це перспективні матеріали, які можуть бути використані в медичній практиці як композиційні матеріали з гідролітичною й антимікробною дією для лікування ран та опіків, що потребують подальших медико-біологічних випробувань.

## REFERENCES

- Smirnov S.V., Shakhlamov M.V., Litinsky M.A., Yanshin D.V., Sachkov A.V., Obolensky V.N. Polyurethane foam covering for wounds, burns and ulcers. *Wound Medicine*, 2013, no. 2–3: 6–8. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2013.10.001>.
- Fugmann B., Dietze M. Resistentye k infektsiiam penopoliuretany, sposob ikh polycheniia i primeneniye v antisepticheskom pereviazochnom materiale dlia ran. Patent EA 200701183, Publ. 28.04.2008.
- Galatenko N.A., Rozhnova R.A. Biologically active polymeric materials for medicine. Kyiv: Nauk. dumka, 2013: 210.
- Kharkov L.V., Pkhakadze G.A., Dudko D.V., Galatenko N.A., Yusubov Yu.A. Kleevye soedineniia v cheliustno-litsevoi



- khirurgii. Kiev: Nauk. dumka, 1993: 79.
5. Pat. US 5474779A, Compositions for aiding in the regeneration of tissue with a prolonged immunomodulating effect. N. Bufius, N. Galatenko. Publ. 12.12.1995.
  6. Lebedev Ye. V., Galatenko N.A., Rozhnova R.A., Kulesh D.V. Serial Production of Domestic Biologically Active Glue for Medical Purposes. Science and innovation. 2016, **12**, no. 1: 61–65. <http://dx.doi.org/10.15407/scine12.01.054>.
  7. Kuranov A.A., Malkov A.V., Afonin A.V. Geleobraznoe pokrytie iz elastichnogo penopoliuretana dlya zakrytiia ran razlichnoi etiologii. Patent RU 2424825, Publ. 27.07.2011.
  8. Karpenko O.S., Galatenko N.A., Kiseleva T.A., Narozhayko L.F. Synthesis of new polyurethane foams for medical use. Polym. J. (Ukr.), 2018, **40**, no. 1: 51–57. <https://doi.org/10.15407/polymerj.40.01.051>.
  9. Zhang X., Wang Y.J., Sun M., Ren X., Zou Y.L., Wang Q.Y., Wang W. Purification and properties of lysozyme from a marine strain. Annals of Microbiology, 2008, **58**: 89–94. <https://doi.org/10.1007/BF03179450>.
  10. Mine Y., Ma F., Lauriau S. Antimicrobial Peptides Released by Enzymatic Hydrolysis of Hen Egg White Lysozyme. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, **52**, no. 5: 1088–1094. <https://doi.org/10.1021/jf0345752>.
  11. Carrillo W., Gómez-Ruiz J.A., Miralles B., Ramos M., Barrio D., Recio I. Identification of antioxidant peptides of hen egg-white lysozyme and evaluation of inhibition of lipid peroxidation and cytotoxicity in the Zebrafish model. European Food Research and Technology, 2016, **242**, no. 10: 1777–1785. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2677-1>.
  12. Sunwoo H., Gujral N. Chemical Composition of Eggs and Egg Products. In book: Handbook of Food Chemistry. P.C.K. Cheung, B.M. Mehta. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2015: 1173. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5\\_28](https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5_28).
  13. Phillips D.C. The Three-Dimensional Structure of an Enzyme Molecule. Scientific American, 1966, **215**, no. 5: 78–90. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican1166-78>.
  14. Wang Q., Fan X., Hu Y., Yuan J., Cui L., Wang P. Antibacterial functionalization of wool fabric via immobilizing lysozymes. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2009, **32**: 633–639. <https://doi.org/10.1007/s00449-008-0286-5>.
  15. Van Herreweghe J. M., Vanderkelen L., Callewaert L., Aertsen A., Compernelle G., Declerck P.J., Michiels C.W. Lysozyme inhibitor conferring bacterial tolerance to invertebrate type lysozyme. Cellular and Molecular Life Sciences, 2010, **67**: 1177–1188. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0241-x>.
  16. Mashkovsky M.D. Lekarstvennye sredstva. Moskva: Novaya volna, 16 edition. 2012: 1216.
  17. Dekina S.S., Romanovska I.I., Ovsepyan A.M., Molodaya A.L., Pashkin I.I. Immobilization of lysozyme in polyvinyl alcohol cryogel. Biotechnologia Acta, 2014, **7**, no. 3: 69–73. <https://doi.org/10.15407/biotech7.03.069>.
  18. Chissov V.I., Reshetov I.V., Yudanov T.N., Skokova I.F. Povyazka dlya lecheniia ran. Patent RU 2174847. Publ. 20.10.2001.
  19. Reshetov I.V., Yudanov T.N., Matorin O.V., Morozov D.S. Coating Material Containing Chlorhexidine and Lysozyme for Wound Treatment. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2004, **38**, no. 7: 388–390. <https://doi.org/10.1023/B:PHAC.0000048441.64207.7c>.
  20. Stashenko K.V., Rudenchyk T.V., Rozhnova R.A., Kiseleva T.O. Development of composite materials based on polyurethane urea with fragments of a copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol and lysozyme. Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii (Ukr.), 2018, no. 2: 115–121.
  21. Stashenko K.V., Rudenchyk T.V., Rozhnova R.A., Galatenko N.A., Narazhaiko L.F. Biocompatible composites with lysozyme based on polyurethane urea with N-vinyl pyrrolidone copolymer fragments, vinyl acetate and vinyl alcohol. Odesa National University Herald. Chemistry (Ukr.), 2018, **23**, no. 2(66): 46–56. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2\(66\).132042](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2(66).132042).
  22. Stashenko K.V., Rudenchyk T.V., Galatenko N.A., Rozhnova R.A. Synthesis and properties of composite materials based on polyurethane urea with fragments of polyvinyl butyral copolymer (vinyl acetate with vinyl alcohol) and lysozyme. Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii (Ukr.), 2020, no. 1: 71–79. <http://dx.doi.org/10.32434/0321-4095-2020-128-1-71-79>.
  23. Stashenko K.V., Rudenchyk T.V., Rozhnova R.A., Galatenko N.A., Nechaeva L.Yu. Study of the influence of the model biological environment on the structure and properties of polyurethane ureas with lysozyme, which contain fragments of copolymer of vinyl butyral, vinyl acetate and vinyl alcohol in the structure. Polym. J. (Ukr.), 2019, **41**, no. 3: 198–205. <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.03.198>.
  24. Kuliesh D.V., Stashenko K.V., Narazhayko L.F., Gritsenko V.P., Zakashun T.E. Research of biodegradation and biocompatibility of polymeric film materials with lysozyme. Bulletin of problems biology and medicine (Ukr.), 2019, no. 3 (152): 131–137. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-3-152-131-137>.
  25. Pretsch E., Bëllmann P., Affolter C. Structure determination of organic compounds. Tables of Spectral Data. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009: 433.
  26. ASTM D897 - 08(2016) Standard Test Method for Tensile Properties of Adhesive Bonds.

Received 17.05.2021

*T.V. Vislohuzova,*

Institute of Macromolecular Chemistry of NAS of Ukraine, 48 Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine  
e-mail: rudenchyk@gmail.com

*R.A. Rozhnova,*

Institute of Macromolecular Chemistry of NAS of Ukraine, 48 Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine  
e-mail: rozhnovarita@gmail.com

*N.A. Galatenko,*

Institute of Macromolecular Chemistry of NAS of Ukraine, 48 Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine  
e-mail: politoks@merlin.net.ua

#### DEVELOPMENT AND RESEARCH OF POLYURETHANE FOAM COMPOSITE MATERIALS WITH LYSOZYME

*The article is devoted to the development and research of the structure and properties of polyurethane foam (PUF) composite materials with the antibacterial enzyme lysozyme. A series of PUF composite materials with lysozyme of various concentrations (1, 3 and 5 wt %) were obtained. It is established that the immobilization of lysozyme occurs due to intermolecular hydrogen bonds by the method of IR spectroscopy. According to the results of physical-mechanical tests the adhesive strength of polyurethane foam compositions with lysozyme is in the range of 0,82–1,16 MPa. The introduction of lysozyme into the composition of polyurethane foams and an increase its amount causes a decrease in the values of adhesion strength by 18,1–29,3 %. According to differential scanning calorimetry the tested systems are single-phase with a glass transition temperature in the range of -49,20 to -49,86 °C. The introduction of lysozyme into the composition causes an increase heating capacity at the glass transition, which can be associated with a decrease of the packing density of macrochains resulting in an increase in free volume, which leads to an increase molecular mobility. According to the results of the analysis of transmission optical microscopy micrographs the studied PUF have a microporous structure, which depends on the content of filler in their composition. It was found that the presence of lysozyme in the composition of composite materials leads to a decrease in the percentage of porosity, an increase in the number of pores with a diameter of up to 300 μm, which is 76,7–82,4 % (while for PUF – 69,5 %) and the absence of pores with a diameter larger than 990 μm. Thermogravimetric characteristics indicate the heat resistance of the synthesized PUF to a temperature of 179,95 °C, which allows dry sterilization of samples without changing their characteristics. PUF composite materials with lysozyme are promising materials that can be used in medical practice as polymer compositions for the treatment of wounds and burns.*

**Keywords:** polyurethane foam, composite material, lysozyme, porosity.