



<https://doi.org/10.15407/polymerj.43.03.214>
УДК 678.664:615.4

І.І. ГЛАДИР,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0002-6248-2709

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

Л.Ю. НЕЧАЄВА,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0002-9715-5986

Л.Ф. НАРАЖАЙКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0001-7031-9998

С.О. ПРИМУШКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: nork345@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3623-1068

РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМЕРНОГО КОМПОЗИЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ З ЦЕФАЗОЛІНОМ НА ОСНОВІ ПОЛІУРЕТАНУ З ІЗОЦІАНУРАТНИМИ ФРАГМЕНТАМИ

Розроблено полімерний композиційний матеріал з Цефазоліном на основі поліуретану з ізоціануратними фрагментами (ПУ), синтезованого на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ 1000), ТДІ (2,4; 2,6-толуїлендіізоціанату) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату (ІЦК, Tolonate™ HDT-LV, ММ 1200) за співвідношення $\text{NCO:OH}=1:1$ у середовищі N,N' -диметилацетаміду (ДМАА) та Цефазоліну (ЦФЗ). ЦФЗ іммобілізовано на ізоціануратвмісному поліуретані шляхом введення 5 % мас. розчину ЦФЗ у ДМАА до реакційної суміші. Синтезований полімерний матеріал (ПУ-ЦФЗ) представляє собою прозору плівку жовтого кольору з фізико-механічними характеристиками: міцністю при розриві (σ) 0,15 МПа і відносним подовженням при розриві (ϵ) 63,40 %. За даними ІЧ-спектроскопії Цефазолін іммобілізовано на полімерній матриці фізично за рахунок міжмолекулярних водневих взаємодій. Вивчено вплив біологічного середовища 199 (БС 199) на структуру та властивості ПУ-ЦФЗ при інкубації протягом 1, 3 і 6-ти міс. Встановлено, що після інкубації у БС 199 структура ПУ-ЦФЗ зазнає змін внаслідок взаємодії молекул ферментів, які входять до складу БС 199, з уретановими та амідними групами ПУ. За результатами фізико-механічних досліджень, після інкубації у БС 199 протягом 6 міс. зразки ПУ-ЦФЗ характеризуються $\sigma = 0,36$ МПа та $\epsilon = 98$ %, тобто зберігають достатні експлуатаційні характеристики для використання їх у біологічних об'єктах протягом близько 6 міс. Композиційні матеріали з Цефазоліном здатні до пролонгованого вивільнення близько 30 % лікарської речовини протягом 28 діб, що достатньо для забезпечення місцевої лікувальної дії. Дослідженням цитотоксичності розробленого матеріалу методом культури тканин *in vitro* встановлено, що композиційний матеріал на основі ізоціануратвмісного поліуретану з Цефазоліном біосумісний.

Ключові слова: поліуретани (ПУ), ізоціанурати, Цефазолін (ЦФЗ), біодеградація, біосумісність.

Цитування: Гладир І.І., Рожнова Р.А., Нечаєва Л.Ю., Наражайко Л.Ф., Примушко С.О. Розробка та дослідження полімерного композиційного матеріалу з цефазоліном на основі поліуретану з ізоціануратними фрагментами. *Полімерний журнал*. 2021. 43, № 3. С. 214—225. <https://doi.org/10.15407/polymerj.43.03.214>

Вступ

На сьогодні актуальними залишаються роботи, присвячені розробці нових композиційних матеріалів з антимікробними та антибактеріальними властивостями для використання в медицині як плівкових покриттів на рани та опіки [1–3], кісткових імплантатів [4], дренажів і катетерів [5, 6] тощо.

Проте, сучасні хірургія, урологія та гінекологія потребують розробки нових біологічно активних полімерних плівкоутворювальних матеріалів зі стійкими антимікробними властивостями для виготовлення імплантаційних матеріалів і різноманітних плівкових покриттів, що будуть забезпечувати пригнічення інфекції в осередку запалення, яке супроводжується мікробною інфекцією. У зв'язку з цим синтез нових і модифікація відомих біосумісних полімерів для використання в медичній практиці – актуальне завдання.

Надання таким матеріалам певних фізико-хімічних властивостей та біологічної активності дасть змогу спеціалістам розв'язати нагальну проблему пригнічення мікробної інфекції при лікуванні багатьох захворювань.

Завдяки покращеним експлуатаційним властивостям, які включають фізико-механічні показники [7–9], хімічну [7] та термостійкість [8], поліуретани з ізоціануратними фрагментами варті уваги як полімерні матриці для створення імплантаційних матеріалів з антимікробною дією. Також відомо використання ізоціануратвмісних поліуретанів для створення імплантаційних матеріалів з пролонговою дією протипухлинних препаратів, зокрема доксорубіцину [10, 11] та Іфосфаміду [12].

Ізоціануратвмісні поліуретани як матриці для створення композиційних біологічно активних полімерних матеріалів з пролонгованим вивільненням доксорубіцину було синтезовано на основі олігооксипропіленгліколю (ООПГ, ММ = 1002), ізоціанатів – толуїлендіізоціанату (ТДІ 80/20) і 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату та дигідрозиду адипінової кислоти варіюванням вмісту ізоціанатних складових [9, 10]. Варіюванням вмісту ізоціанатних складових при синтезі полімерної матриці, зокрема толуїлендіізоціанату (ТДІ) та 2,4,6-триізоціанат (трисгексаметилен)ізоціанурату

було отримано нові полімерні матеріали з різною структурою та властивостями, наповнені доксорубіцином [11]. Авторами [12] синтезовано поліуретан з ізоціануратними фрагментами (ПУ) на основі поліоксипропіленгліколю (ООПГ 1000), ТДІ (2,4;2,6-толуїлендіізоціанату) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату й отримано композиційний матеріал із Іфосфамідом на його основі.

З метою створення полімерних матеріалів з місцевою пролонговою антибактеріальною дією, доцільно структурно модифікувати поліуретани (ПУ) з ізоціануратними фрагментами Цефазоліном – антибіотиком широкого спектра антимікробної дії, який належить до групи цефалоспоринів першого покоління. Цефазолін – один із лікарських засобів, ефективних при лікуванні бактеремії [13], що може виникати у пацієнтів з опіками та у постопераційний період, при використанні внутрішньосудинних катетерів тощо [14]. Відомо [15], що термочутливий гідрогель, з інкапсульованим цефазоліном, демонструє хороші антибактеріальні ефекти зі стійким рівнем до 30 днів, що дає змогу розробити ін'єкційний депо-гель для тривалої доставки ліків. Дослідження хітозан-поліетиленоксидних матеріалів з цефазоліном [16] показали їхню ефективність при загоєнні ран шкіри щурів Вістар. Досліджено поліуретановий композиційний матеріал з Цефазоліном як перспективний матеріал для використання в медицині [17].

Здатність до біодеградації – одна з найважливіших характеристик полімерного матеріалу для медицини, яку необхідно враховувати при створенні полімерних матеріалів медичного призначення, зокрема поліуретанів [18]. Вивчення цього процесу важливе при створенні біологічно активних полімерних матеріалів, призначених для використання як імплантаційного матеріалу. При розробці полімерних матеріалів для медицини необхідне проведення комплексу робіт, які полягають у дослідженні впливу біологічного середовища на зміну його структури та властивостей [12, 19], динаміки вивільнення лікарського препарату, біосумісності з використанням методу культури тканин як експрес методу токсикологічного оцінювання [20, 21]. За результатами досліджень можна дійти висновку щодо можливого подальшого впровадження розроблених

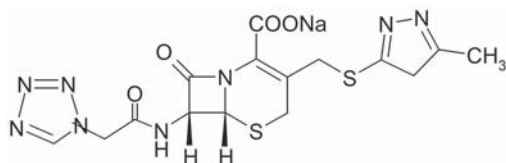
матеріалів як матеріалів постійного чи тимчасового терміну дії.

Метою роботи була розробка композиційних матеріалів з Цефазоліном на основі поліуретанових матеріалів з ізоціануратними фрагментами як імплантатів м'яких тканин з пролонгованою антимікробною дією, дослідження їхньої структури та властивостей за умов *in vitro*.

Експериментальна частина

Матеріали.

Цефазолін (цефазоліну натрієва сіль (натрію (6R,7R)-3-[(5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-іл)тіометил]-8-оксо-7-[2-(1-Н-тетразол-1-іл)ацетамідо]-5-тіа-1-азабіцикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат) – антибіотик широкого спектра антимікробної дії, що належить до групи цефалоспоринів першого покоління [22]:



Цефазолін-Дарниця (фарм.) був використаний без додаткового очищення.

Поліоксипропіленгліколь (ПОПГ) (Rokopol M 1000) для синтезу поліуретану було отримано від PPC Rokita SA (Poland). ПОПГ сушили за залишкового тиску 3 мм рт. ст. і температури 80 ± 5 °C у потоці сухого аргону протягом 8 год. безпосередньо перед синтезом.

2,4;2,6-толуїлендіізоціанат (ТДІ, 86,7 %) було використано для синтезу поліуретану (Merck, суміш 2,4-;2,6-ізомерів за співвідношення 80/20 % мас.).

2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурат (Tolonate™ HDT-LV) з ММ 1200 використовували без додаткового очищення.

N,N'-диметилацетамід, (ДМАА, Merck, 99,8 %) застосовували без додаткового очищення.

Всі інші хімічні реактиви та розчинники, використані в роботі були аналітично чистими.

Для дослідження біодеградації отриманих поліуретанів було використано біологічне середовище 199 (Pharmacia Ltd., Kiyv, Ukraine).

Метод інкубації в біологічному середовищі 199

Зразки ПУ у вигляді смужок розміром 0,5 x 5,0 см поміщали в стерильні бюкси, заливали 25 мл модельного біологічного середовища і витримували в термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 1, 3 і 6 міс. Розчини модельного середовища змінювали щоденно. Як модельне середовище використовували біологічне середовище 199 (БС 199), яке являє собою складну суміш білків, амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів і розчинних газів (рН = 7,4). Після визначених термінів перебування у модельному середовищі зразки виймали, промивали дистильованою водою та сушили до постійної маси за температури 70 °C.

Методи дослідження

ІЧ-спектроскопічні дослідження (ATR FT-IR).

ІЧ-спектри поглинання були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є-перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відображення в області $600\text{--}4000$ cm^{-1} , з використанням призми-трапеції кристалу алмаза (число відображень $N = 1$, кут падіння $\varphi = 39^\circ$). Віднесення смуг поглинання зроблено відповідно до [23, 24].

Фізико-механічні випробування.

Міцність при розриві (σ , МПа) та відносне подовження при розриві (ϵ , %), синтезованих ПУ визначали за ISO 527-3 на модернізованій машині 2166 P-5 за швидкості розширення захватів 50 ± 5 мм/хв. і швидкості фіксації результатів 0,01 с.

Спектрофотометричний метод.

Дослідження динаміки вивільнення Цефазоліну визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Specord M-40 за оптичною густиною розчину ($\lambda = 270 \pm 1$ нм) у кюветях з товщиною шару 10 мм. Величину оптичної густини приймали як середнє арифметичне трьох послідовних вимірювань.

Метод культури тканин.

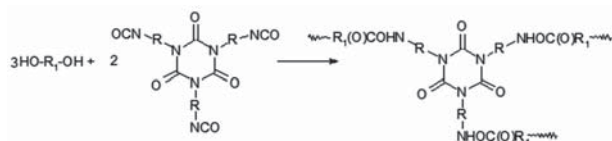
Випробування щодо вивчення біосумісності зразків ізоціануратвмісних поліуретанів з іммобілізованим Цефазоліном проводили відповідно до вимог гармонізованого стандарту ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 з використанням

методу клітинної культури [20], який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. Як джерело клітин використовували підшкірну клітковину білих лабораторних щурів, що за умов культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів.

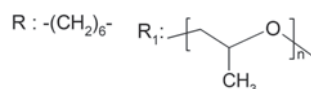
Результати дослідження та їх обговорення

Синтез композиційних матеріалів з Цефазоліном на основі ПУ з ізоціануратними вузлами розгалуження.

Було синтезовано поліуретан з ізоціануратними фрагментами на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ) з молекулярною масою 1000 та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату (Tolonate™ HDT-IV) (ІЦК) з ММ 1200 за мольного співвідношення ПОПГ:ІЦК=3:2 (NCO:OH=1:1) у середовищі N,N'-диметилацетаміду (ДМАА) за загальною схемою:



де:



У тригорлий реактор, обладнаний мішалкою та відводом для подачі аргону, помістили 10,84 г (0,0108 моль) ПОПГ з ММ 1000, при перемішуванні додали 9,5 г (0,0079 моль) ІЦК за кімнатної температури. Через 10 хв. додали 0,0040 г (0,02 % від маси полімеру) каталізатора ферум ацетилацетанату, попередньо розчиненого у 2 мл диметилацетаміду. Реакцію проводили за температури 65–70 °С при постійному перемішуванні протягом 4,5 год. Хід реакції контролювали методом ІЧ-спектроскопії за зміною інтенсивності профілю смуги валентних коливань ν NCO груп за 2275 cm^{-1} до досягнення 45–50 %-вої конверсії вільних NCO-груп. Розчин полімеру вакуумували, поміщали у тефлонові форми і витримували у сушильній шафі за температури 50–55 °С протягом 7 діб до повної конверсії вільних NCO-груп.

Синтезований полімерний матеріал (ПУ) представляє собою прозору плівку жовтого кольору з фізико-механічними характеристиками: $\sigma = 0,20 \pm 0,02$ МПа; $\epsilon = 44,00 \pm 3,45$ %.

Модифікацію поліуретану Цефазоліном здійснювали безпосередньо під час синтезу поліуретану шляхом введення розчину 1,017 г Цефазоліну у 5 мл ДМАА (у розрахунку 5 % мас.) до реакційної суміші після досягнення 45–50 %-вої конверсії вільних NCO-груп, з подальшим вакуумуванням і висушуванням у сушильній шафі за температури 30 \pm 5 °С протягом 7 діб до повної конверсії вільних NCO-груп.

Хід реакції контролювали методом ІЧ-спектроскопії за зміною інтенсивності профілю смуги валентних коливань ν NCO груп за 2275 cm^{-1} .

Синтезований полімерний матеріал (ПУ-ЦФЗ) представляє собою прозору плівку жовтого кольору з фізико-механічними характеристиками: $\sigma = 0,15 \pm 0,01$ МПа; $\epsilon = 63,40 \pm 3,46$ %.

При порівнянні ІЧ-спектрів зразків ПУ (рис. 1, крива 2) та ПУ-ЦФЗ (рис. 1, крива 3) спостерігали область валентних коливань ν NH, ν OH від 3100 до 3680 cm^{-1} з максимумами за 3540 і 3335 cm^{-1} .

На ІЧ-спектрі Цефазоліну проявляється смуга характерна для деформаційних коливань C–O в карбоксильній групі за 1760 cm^{-1} . Спостерігається смуга, яка відповідає за ν C=O в лактамовому циклі за 1678 cm^{-1} , наявна смуга за 1657 cm^{-1} , характерна для коливань вторинної аміногрупи.

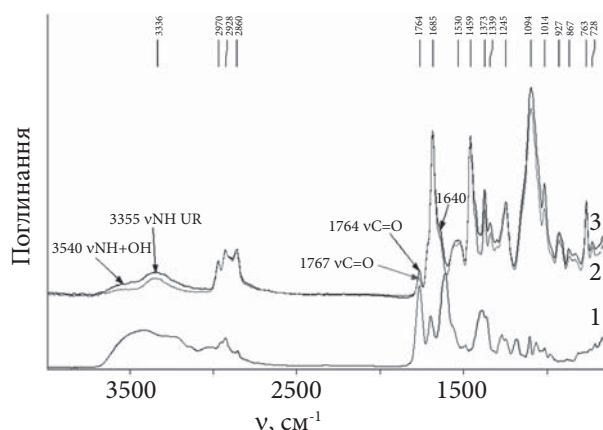


Рис. 1. Фрагменти ІЧ-спектрів ПУ: Цефазолін (1); ПУ (2); ПУ-ЦФЗ (3)

Таблиця 1. Зміна фізико-механічних властивостей ПУ з ізоціануратними фрагментами після інкубації у біологічному середовищі 199

| Термін інкубації, міс. | Немодифікований ПУ | | ПУ, модифікований Цефазоліном | |
|------------------------|--------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| | σ , МПа | ϵ , % | σ , МПа | ϵ , % |
| До інкубації | 0,20 | 44 | 0,15 | 63 |
| 1 | 0,26 | 71 | 0,28 | 101 |
| 3 | 0,24 | 68 | 0,24 | 106 |
| 6 | 0,36 | 60 | 0,36 | 98 |

На ІЧ-спектрі ПУ (рис. 1, крива 2) наявна смуга валентних коливань $\nu_{C=O}$ за 1767 см^{-1} . При введенні Цефазоліну до ПУ на спектрі ПУ-ЦФЗ (рис. 1, крива 3) спостерігається нашарування $\nu_{C=O}$ у лактамовому циклі за 1678 см^{-1} , що супроводжується збільшенням інтенсивності та зміщенням смуги валентних коливань $\nu_{C=O}$ у бік менших частот 1764 см^{-1} . Смуга валентних коливань $\nu_{C=O}$ Цефазоліну за 1610 см^{-1} на спектрі ПУ-ЦФЗ (рис. 1, крива 3) проявляється плечем смуги за 1640 см^{-1} до смуги за 1685 см^{-1} $\nu_{C=O}$ (рис. 1, крива 3).

На спектрі ПУ наявна смуга валентних коливань NH-зв'язків уретанової групи за 3355 см^{-1} та слабо зв'язаних NH-груп за 3540 см^{-1} (слабке плече) (рис. 1, крива 2). При введенні лікарської речовини на спектрі ПУ-ЦФЗ змінюється профіль вільних і слабо зв'язаних NH-груп (рис. 1, крива 3), з'являється плече за 3163 см^{-1} валентних коливань сильно зв'язаних NH-груп (зміщення максимумів смуг валентних коливань ν_{NH} у бік менших частот).

Отже, введення до ПУ Цефазоліну з дуже активною групою C=O (у лактамовому циклі),

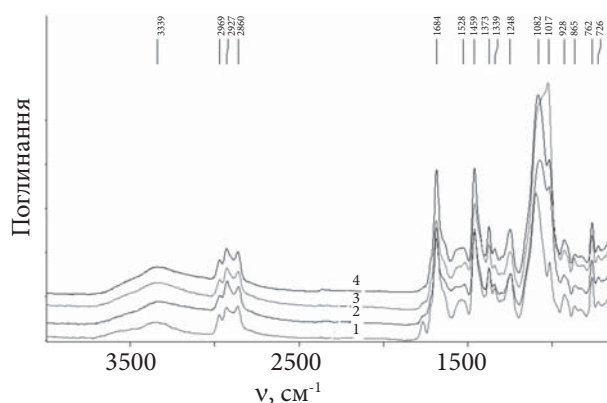


Рис. 2. ІЧ-спектри ПУ, модифікованого Цефазоліном після інкубації у БС 199: контроль (1); 1 міс. (2); 3 міс. (3) і 6 міс. (4)

валентні коливання якої спостерігали за 1768 см^{-1} , а також груп COO^- і NH призводить до зміни водневих зв'язків поліуретану з утворенням нових як слабких, так і сильніших водневих зв'язків, з утворенням близьких до іонних зв'язків. Отже, іммобілізація Цефазоліну на полімерній матриці фізична, що є важливим моментом при збереженні біологічної активності та забезпеченні пролонгованої дії лікарського препарату.

Дослідження змін структури та властивостей ізоціануратвмісних поліуретанових композицій з Цефазоліном під впливом БС 199

Важливий етап дослідження нових полімерних матеріалів медичного призначення – вивчення їх здатності до біодеградації за умов, наближених до організму людини. Вплив модельного БС 199 на властивості ПУ оцінювали методом ІЧ-спектроскопії, а також за зміною фізико-механічних характеристик (міцність при розриві, відносно подовження) після інкубації у БС 199 (рис. 2, 3, табл. 1).

ІЧ-спектри полімеру, модифікованого Цефазоліном, після перебування в модельному БС 199 протягом 1, 3 і 6-ти міс. наведено на рис. 2, 3.

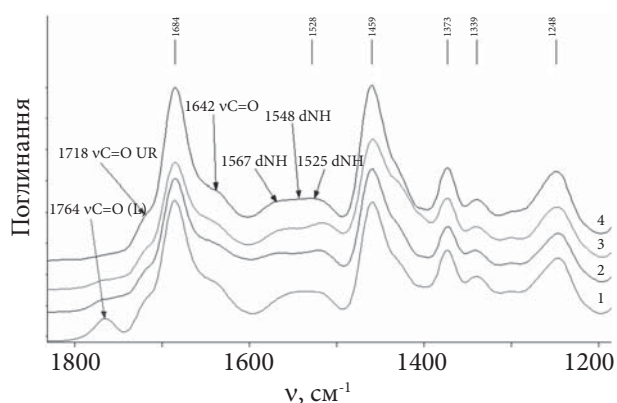


Рис. 3. Фрагменти ІЧ-спектрів в області $1800\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ ПУ, модифікованого Цефазоліном після інкубації у БС 199: контроль (1); 1 міс. (2); 3 міс. (3) і 6 міс. (4)

Смугою порівняння є смуга деформаційних коливань NH 1461 см^{-1} .

Після перебування зразків ПУ, модифікованих Цефазоліном в модельному БС 199 протягом 6-ти міс. на ІЧ-спектрах спостерігали такі зміни (рис. 3). Смуга $\nu_{\text{C=O}}$ 1684 см^{-1} має плечі з максимумом за 1718 см^{-1} зі зміщенням у бік більших частот і смугу 1642 см^{-1} зі зміщенням у бік менших частот. Зі збільшенням терміну інкубації в БС 199 смуга 1718 см^{-1} , яка відповідає за валентний зв'язок C=O уретану, залишається постійною, а смуга $\nu_{\text{C=O}}$ 1642 см^{-1} амідного зв'язку зростає в ряду 1, 3 і 6 міс.

Також після перебування в БС 199 протягом до 6 міс. на ІЧ-спектрах ПУ-ЦФЗ спостерігається зменшення інтенсивності смуги 1764 см^{-1} , яка характеризує $\nu_{\text{C=O}}$ лактамового циклу Цефазоліну, що зумовлено вивільненням Цефазоліну з полімерної матриці.

В області $1500\text{--}1600 \text{ см}^{-1}$ спостерігали деформаційні коливання δ_{NH} як уретанових, амідних, так і білкових груп. У цій області відбувається зміна профілю смуг 1521 , 1548 і 1571 см^{-1} зі зростанням інтенсивності двох останніх деформаційних смуг δ_{NH} уретану. При подовженні терміну перебування поліуретану в БС 199 до 6-ти міс. відбувається розпушення валентних і деформаційних зв'язків уретану, що призводить до можливості проникнення в структуру поліуретану різних груп, які входять до складу БС 199, яке являє собою складну суміш білків, амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів і розчинних газів ($\text{pH}=7,4$).

Отже, структура полімерних зразків після інкубації в БС 199 протягом 6 міс., набуває істотних змін, що можуть бути наслідком взаємодії молекул ферментів, які входять до складу БС 199, з уретановими та амідними групами поліуретану, схожими за будовою з групами білкової молекули.

Згідно з результатами фізико-механічних досліджень (табл. 1) після інкубації зразків полімерних плівок у модельному БС 199 протягом 6 міс. спостерігається підвищення міцності при розриві полімерних зразків як модифікованих, так і контрольних в 1,8 і 2,4 раза відповідно. Після 6 міс. інкубації відносно подовження при розриві для контрольних зразків збільшується приблизно на 36 %, а для зразків поліуретанів, модифікованих Цефазоліном, спостерігається збільшення відносного подовження при розриві майже на 53 %, порівняно зі зразками до інкубації.

Отже, за результатами дослідження впливу модельного БС 199 протягом 6 міс. на структуру та властивості композиційних матеріалів з Цефазоліном на основі поліуретанів з ізоціануратними фрагментами встановлено, що структура композитів з Цефазоліном набуває змін, що може бути наслідком взаємодії молекул ферментів, які входять до складу БС 199, з уретановими та амідними групами поліуретану, схожими за будовою з групами білкової молекули. За результатами фізико-механічних досліджень встановлено, що після інкубації у БС 199, синтезовані зразки ПУ як немодифіковані, так і модифіковані Цефазоліном, зберігають достатні експлуатаційні характеристики для використання їх у біологічних об'єктах протягом 6 міс.

Дослідження динаміки вивільнення Цефазоліну зі зразків поліуретанів з ізоціануратними фрагментами in vitro

Важливим етапом дослідження нових полімерних матеріалів медичного призначення є вивчення динаміки вивільнення Цефазоліну з полімерних зразків *in vitro*. Для оцінювання статистичної вірогідності досліджували по 3 зразки ПУ, що містять Цефазолін (ПУ-ЦФЗ), та контрольний зразок ПУ без Цефазоліну.

Таблиця 2. Величини концентрації розчинів Цефазоліну для побудови калібрувального графіка

| Концентрація розчину Цефазоліну (C), % | Довжина хвилі (λ), нм | Оптична густина ($D_{\text{сер.}}$) |
|--|---------------------------------|---------------------------------------|
| 0,005 | 271,1 | 1,411 |
| 0,004 | 270,7 | 1,125 |
| 0,003 | 270,3 | 0,840 |
| 0,002 | 270,6 | 0,562 |
| 0,001 | 269,8 | 0,279 |

Таблиця 3. Динаміка виходу Цефазоліну з ПУ з ізоціануратними фрагментами

| Час вимивання, доба | Оптична густина витяжки ($D_{\text{сер.}}$) | Розведення витяжки (n), рази | Концентрація ЦФЗ (згідно з калібрувальним графіком) (C), % | Маса ЦФЗ, що вивільнився з полімеру в розчин | | |
|---------------------|---|----------------------------------|--|--|--------------------------------|-----------------|
| | | | | з моменту попереднього визначення (m), г | з початку вимивання (M), г | % від введеного |
| 1 | 0,7085 | 3 | 0,0025 | 0,00150 | 0,00150 | 6,13 |
| 2 | 1,3142 | - | 0,0047 | 0,00094 | 0,00244 | 9,97 |
| 3 | 1,0360 | - | 0,0037 | 0,00074 | 0,00318 | 12,99 |
| 4 | 0,7871 | - | 0,0028 | 0,00056 | 0,00374 | 15,28 |
| 5 | 0,7561 | - | 0,0027 | 0,00054 | 0,00428 | 17,48 |
| 6 | 0,7012 | - | 0,0025 | 0,00050 | 0,00478 | 19,53 |
| 7 | 0,6842 | - | 0,0024 | 0,00048 | 0,00526 | 21,49 |
| 14 | 0,6533 | 3 | 0,0023 | 0,00138 | 0,00664 | 27,12 |
| 21 | 0,6865 | - | 0,0025 | 0,00050 | 0,00714 | 29,17 |
| 28 | 0,4163 | - | 0,0015 | 0,00030 | 0,00744 | 30,39 |

Кожен зразок поміщали в бюкс з притертою пробкою, додавали по 20 мл дистильованої води. Інкубацію зразків проводили у термостаті за температури 38 ± 1 °С. Вивільнення Цефазоліну у розчин вивчали спектрофотометричним методом. Спектр поглинання Цефазоліну має максимум за довжини хвилі $\lambda = 270 \pm 1$ нм. Вивчення динаміки вивільнення Цефазоліну здійснювали шляхом порівняння експериментальних даних з даними, наведеними на калібрувальному графіку.

Для побудови калібрувального графіка залежності оптичної густини розчинів від концентрації Цефазоліну було підготовлено серію розчинів Цефазоліну з відсотковими концентраціями: (0,005; 0,004; 0,003; 0,002 та 0,001). Спектри поглинання отриманих розчинів досліджували за допомогою приладу «SPECORD M-40» у кюветах з товщиною шару 1 см (табл. 2).

Калібрувальний графік має вигляд прямої лінії, що проходить через початок координат.

Вивчення динаміки вивільнення Цефазоліну здійснювали таким чином. Три дослідних полімерних зразки та один контрольний із середньою масою близько 0,5 г кожний, поміщали в бюкси з притертими пробками, додавали по 20 мл дистильованої води та інкубували у термостаті за температури 38 ± 1 °С. Періодично розчини зливали і досліджували спектри поглинання. Як розчин порівняння викорис-

товували витяжку з контрольного зразка. Результати дослідження наведені у табл. 3.

У графічному вигляді результати дослідження динаміки вивільнення Цефазоліну наведені на рис. 4.

Згідно з результатами проведених досліджень, зі зразків ізоціануратвмісного поліуретану, модифікованого Цефазоліном, протягом 28 діб поступово вивільняється близько 30 % іммобілізованого Цефазоліну без погіршення експлуатаційних характеристик матеріалу, що свідчить про можливість використання синтезованих зразків як матеріалів з місцевим пролонгованим вивільненням лікарської речовини.

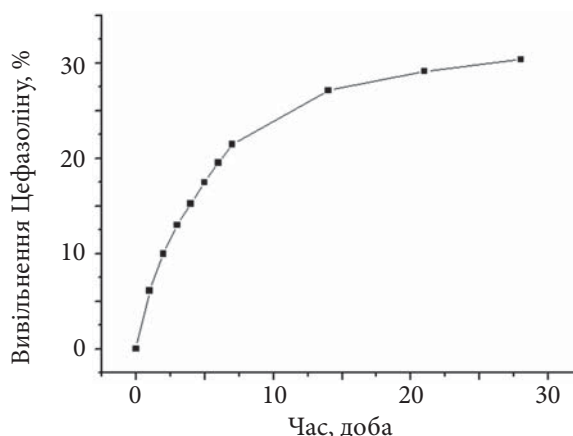


Рис. 4. Залежність вивільнення Цефазоліну зі зразків ПУ-ЦФЗ від часу інкубації

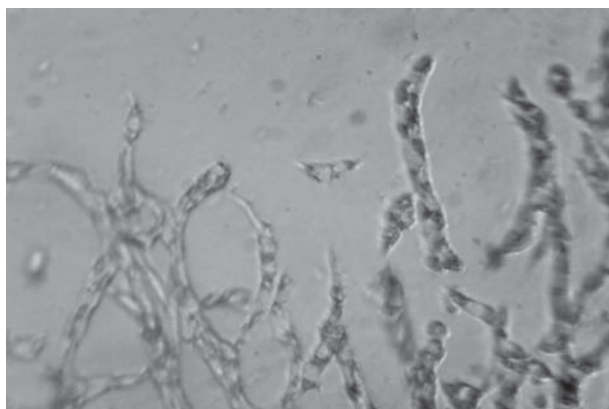


Рис. 5. Міграція фібробластичних елементів на 5 добу культивування при дослідженні витяжки із полімерного зразка 2 (ПУ-ЦФЗ). Об'єktiv 10, окуляр 16^x

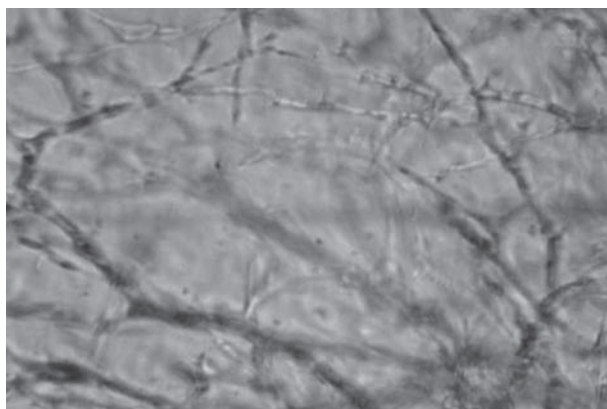


Рис. 6. Компактна зона росту фібробластичних елементів на 7 добу при внесенні в середовище культивування витяжки із полімерного зразка 1 (ПУ). Об'єktiv 10, окуляр 16^x

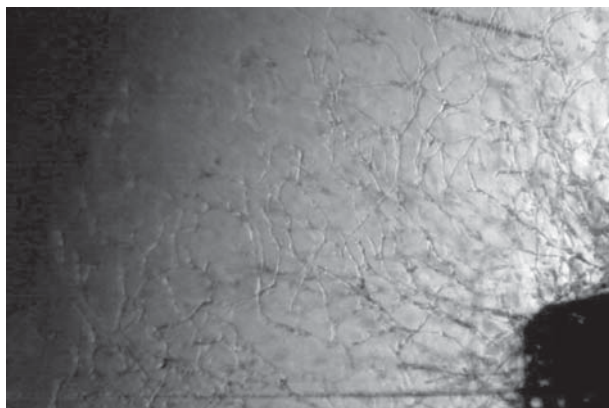


Рис. 7. Ріст культури фібробластів на 7 добу при внесенні в середовище культивування витяжки із полімерного зразка 2 (ПУ-ЦФЗ)

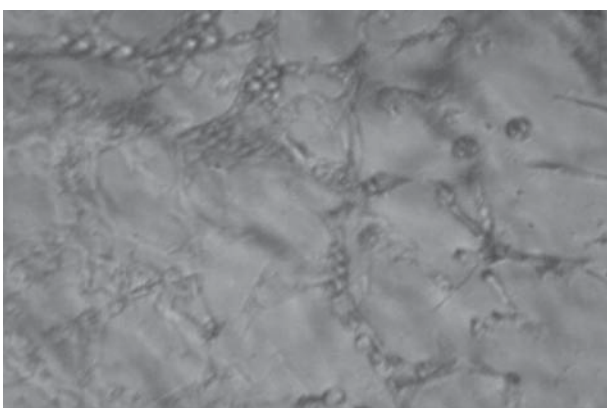


Рис. 8. Компактна та сіткоподібна зони фібробластичних елементів на 10 добу при внесенні в середовище культивування витяжки із полімерного зразка 2 (ПУ-ЦФЗ). Об'єktiv 10, окуляр 16^x

Дослідження впливу Цефазоліну в складі полімерних матеріалів на основі ізоціануратвмісних поліуретанів на ріст і розвиток культури тканин

Об'єкти дослідження: Зразок 1 – ізоціануратвмісний поліуретан (ПУ), зразок 2 – ізоціануратвмісний поліуретан з іммобілізованим Цефазоліном (ПУ-ЦФЗ).

Культури досліджені методом експлантації в згустку плазми у флаконах Карреля. Досліджували дві експериментальні групи: дослідна (ПУ, ПУ-ЦФЗ) і контрольна. У контрольній групі культивували тканини на плазмі зі зміною БС 199 протягом 3, 7, 10 і 14 діб культивування. У дослідній групі впродовж 3, 7, 10 і 14 діб культивування БС 199 замінювали витяжками зі зразків ПУ та ПУ-ЦФЗ, які готували за співвідношення ваги дослідних зразків і об'єму

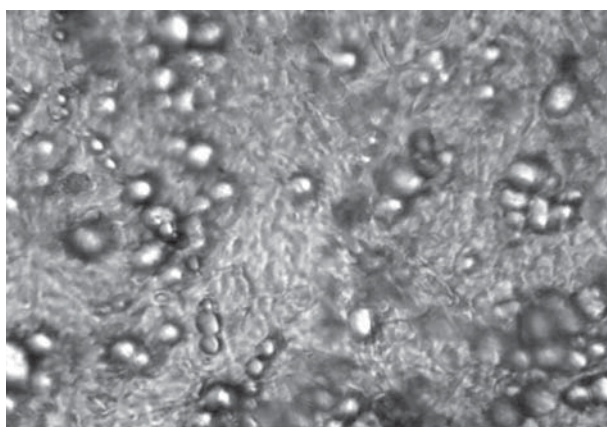


Рис. 9. Зернисте переродження цитоплазми на 14 добу в флаконах з витяжкою зі зразка 2 (ПУ-ЦФЗ). Об'єktiv 10, окуляр 16^x

БС 199 100:1 мг/мл. Як модельне середовище використовували БС 199 для культури тканин.

Час контакту зразків із модельним середовищем 1 доба. Температурний режим екстракції 37 °С.

Для визначення впливу досліджуваного матеріалу на ріст культури тканини витяжку з нього вносили в середовище культивування на третю добу інкубації.

На 5, 7, 10 і 14 добу проводили спостереження за ростом компактної, сіткоподібної зони і зони одиничних мігруючих фібробластичних елементів, використовуючи мікроскоп AMPLIVAL (Німеччина). Критерієм для виділення цих зон є характер розташування зростаючих фібробластичних елементів. До компактної зони належать ділянки щільного розташування клітин, що ростуть. До сіткоподібної – ділянки розташування клітинних тяжів, що анастомозуються і галузяться. По вершинах ізольованих клітинних тяжів, що врастають у тверду фазу живильного середовища до місця ізольовано розташованих клітин, визначають зону одиничних мігруючих елементів. Динаміка росту та розвитку клітинних елементів на плазмі не відрізнялись від стандартного контролю [18].

Динаміка росту і розвитку клітинних елементів при внесенні витяжок із полімерного зразка 1 у флакони Карреля загалом порівняна з контролем. На 5 добу спостерігали формування сіткоподібної та зони одиничних мігруючих елементів, тяжі клітин полігональної форми, а також жирові включення в зоні одиничних мігруючих клітин, варіабельність клітинних форм.

Спостереження за культурами тканин при внесенні витяжки зі зразка 2 (з Цефазоліном) на 5 добу також показали формування двох зон росту, як у контролі. Слід відзначити, що при дослідженні зразка 2 (ПУ-ЦФЗ) клітини були більших розмірів, форма клітин варіювала від веретеноподібної до полігональної (рис. 5). Слід відмітити формування тяжів клітин полігональної форми та незначної за площею зони одиничних мігруючих елементів.

Надалі активність росту фібробластичних елементів зростала. На 7 добу культивування спостерігали формування трьох зон росту – компактної, сіткоподібної та зони мігруючих фібробластичних елементів як для контрольних, так і для дослідних зразків 1 і 2 (рис. 6, 7). Зони росту за площею не поступались таким для контрольних зразків.

Спостерігали варіабельність клітин в усіх зонах росту, однак кількість веретеноподібних на цей час випробування збільшується.

На 10 добу випробувань збільшилися зони компактної, сіткоподібної та зони одинично мігруючих клітин для всіх дослідних зразків ПУ та ПУ-ЦФЗ. Як і в контролі, виявлено ознаки дегенеративних змін фібробластичних і фібробластоподібних клітин у компактній та сіткоподібній зонах (рис. 8).

На 14 добу дослідження клітинна популяція вступає у фазу дегенерації, що проявляється значною вакуолізацією цитоплазми та зернистим її переродженням у клітинах як в контрольних, так і в дослідних зразках, що характерно для цього терміну культури (рис. 9). Виявляється значна кількість жирового переродження клітин.

Отже, за результатами проведених досліджень динаміка і характер росту клітинних елементів у дослідних флаконах істотно не відрізнялися від контрольних культур. Це дає можливість дійти висновку про відсутність гістотоксичного впливу Цефазоліну у складі полімерних матеріалів на основі ізоціануратвмісних поліуретанів на ріст і розвиток культури тканин.

Висновки

З метою створення нових полімерних матеріалів із місцевим пролонгованим вивільненням лікарських препаратів з антимікробною дією синтезовано ізоціануратвмісний поліуретан на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ 1000), ТДІ (2,4;2,6-толуїлендіізоціанату) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату (ІЦК, Tolonate™ HDT-LV, ММ 1200) за співвідношення NCO:OH=1:1 в середовищі N,N'-диметилацетаміду (ДМАА) та проведено іммобілізацію Цефазоліну на цьому полімерному носії. За результатами ІЧ-спектроскопії, іммобілізація Цефазоліну на полімерній матриці фізична за рахунок водневих зв'язків, що важливо для збереження біологічної активності та забезпечення пролонгованої дії лікарського препарату.

Проведені дослідження впливу модельного середовища БС 199 протягом 1, 3 і 6 міс. на структуру та властивості композиційних матеріалів з Цефазоліном на основі ПУ з

ізоціануратними фрагментами. Встановлено, що структура композитів з Цефазоліном набуває змін внаслідок взаємодії молекул ферментів, які входять до складу БС 199 із уретановими та амідними групами ПУ. За результатами фізико-механічних досліджень, після інкубації у БС 199 зразки ПУ, модифіковані Цефазоліном, характеризуються міцністю при розриві 0,36 МПа та відносним подовженням при розриві 98 %, тобто зберігають достатні експлуатаційні характеристики для використання їх у біологічних об'єктах протягом 6 міс.

За результатами спектрофотометричного дослідження динаміки вивільнення Цефазоліну встановлено, що протягом 28 діб зі зразків композиційних матеріалів вивільняється

близько 30 % лікарського препарату, що достатньо для забезпечення місцевої лікувальної дії.

Методом культури тканин досліджена цитотоксичність ізоціануратвмісних поліуретанів з іммобілізованим Цефазоліном. За результатами дослідження динаміка і характер росту клітинних елементів у дослідних флаконах з ПУ-ЦФЗ істотно не відрізнялися від контрольних культур, що вказує на відсутність гістотоксичного впливу Цефазоліну у складі ізоціануратвмісного поліуретану на ріст і розвиток культури тканин. Згідно з експрес методом токсикологічного оцінювання, розроблені композиційні матеріали з Цефазоліном біосумісні.

REFERENCES

1. Karpenko O.S., Galatenko N.A., Rozhnova R.A. et al. Syntez novykh poliuretanemochevin medychnogo pryznachennia, napovnenykh dekametoksynom. *Polymer Journal (Ukr)*, 2015, **37**, no. 2: 200–204.
2. Rozhnova R.A., Karpenko O.S., Rudenychuk T.V., Galatenko N.A., Kiseleva T.O. Rozrobka plivkovy`x materialiv z dekametoksy`nom na osnovi poliuretansechovy`n, yaki mistyat` u svoiyi strukturi fragmenty` kopolimeru N-vinilpirolidonu z vinilovy`m spy`rtom. *Naukovi zapy`sky. NaUKMA*, 2016, **10**: 54–59.
3. Savelyev Yu., Veselov V., Markovskaya L., Savelyeva O., Akhranovich E., Galatenko N., Robota L., Travinskaya T. Preparation and characterization of new biologically active polyurethane foam. *Materials Science and Engineering: C*, 2014, **45**: 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.068>.
4. Gorbunova N.O., Rozhnova R.A., Galatenko N.A., Gry`cenko V.P. Doslidzhennya mozhly`vosti ximichnoyi immobilizaciyi proty`tuberkul`ozny`x zasobiv na poliuretan-epoksy`dnomu polimernomu nosiyi. *Polymer Journal (Ukr)*, 2011, **32**, no. 3: 288–294.
5. Vislohuzova T., Rozhnova R., Galatenko N., Narazhayko L., Rudenko A. Study of biodegradation, biocompatibility and bactericidal activity of film materials with tiamulin fumarate based on polyurethaneurea, *Chem. Chem. Technol.*, 2020, **14**, no. 3: 318–326. <https://doi.org/10.23939/chcht14.03.318>.
6. Rudenychuk T., Rozhnova R., Galatenko N. Hydrophylic Polyurethaneurea Containing the Copolymer of N-vinylpyrrolidone, Vinyl Acetate and Vinyl Alcohol for Possible Biomedical Use. *Adv. Biochem.*, 2017, **5**, no. 4: 73–78. <https://doi.org/10.11648/j.ab.20170504.14>.
7. Gite V.V., Mahulikar P.P., Hundiwale D.G., Kapadi U.R. Polyurethane coatings using trimer of isoporone diisocyanate. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 2004, **63**: 348–354.
8. Bakirova I.N., Zenitova L.A., Novoseltsev V.T. Sintez i svoystva poliuretanov pokrytiy s izotsianuratnyimi koltsami v tsepi. *Himiya i kompyuternoe modelirovanie. Butlerovskie soobscheniya*. 2002, no. 11: 41–44.
9. Lukashevich S. A., Rozhnova R. A., Galatenko N. A., Kozlova G. A. Development of method for synthesis of polyurethanes branched structure containing isocyanurate fragments in macrochain. Study their structure and properties. *Odesa National University Herald. Chemistry*. 2016, **21**, no. 4(60): 48–56. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.4\(60\).83667](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.4(60).83667).
10. Lukashevich S.A., Rozhnova R.A., Kozlova G.A., Nechaeva L.Yu. Kompozytsiini materialy na osnovi izotsianuratvmsnoho poliuretanu z prolonhovanyim vyvilnenniam doksorubitsynu. *Polymer Journal (Ukr)*, 2019, **41**, no. 4: 271–277. <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.04.271>.
11. Lukashevich S. A., Kozlova G. A. Polyurethanes synthesized on the basis of di- and polyisocyanate filled with doxorubicin: a study of the structure and properties. *Polymer Journal (Ukr)*, 2019, **41**, no. 1: 58–61. <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.01.058>.
12. Gladyr I.I., Kozlova G.A., Narazhayko L.F., Galatenko N.A. Development and research of polymeric composite materials of medical purpose with Ifosfamide on the basis of polyurethane with isocyanurate fragments. *Polymer Journal (Ukr)*, 2020, **42**, no. 2: 125–135. <https://doi.org/10.15407/polymerj.42.02.125>.
13. Weis S., Kesselmeier M., Davis J.S. et al. Cefazolin versus anti-staphylococcal penicillins for the treatment of patients

- with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clinical Microbiology and Infection*, 2019, **25**, no. 7: 818–827. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.010>.
14. *Jane M. GouldGail, L. Rodgers*. Infection following Burns, Part II. In book: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fourth Edition)*, Ed.: S. Long, L. Pickering, Ch. Prober, Imprint: Saunders, 2012. ISBN: 9780323247658.
 15. *Po-Liang Lai, Ding-Wei Hong, Kuan-Lin Ku et. al.* Novel thermosensitive hydrogels based on methoxy polyethylene glycol-co-poly(lactic acid-co-aromatic anhydride) for cefazolin delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2014, **10**, no. 3: 553–560. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.09.005>.
 16. *Yousef Fazli, Zahra Shariatinia Mats*. Controlled release of cefazolin sodium antibiotic drug from electrospun chitosan-polyethylene oxide nanofibrous. *Materials Science and Engineering:C*, 2017, **71**, no. 1: 641–652. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.048>.
 17. *Grigorieva M.V., Gladir I.I., Galatenko N.A.* *Cephasoline filled polyurethane carriers*. *Ukrainskij khimichnyj zhurnal (Ukr)*, 2002, **68**, no. 4: 125–127.
 18. *Burenko G.V., Galatenko N.A., Kabak K.S.* *Morfologicheskie i biohimicheskie aspektyi biodestruktsii polimerov*. Kiev: Nauk. dumka, 1986:152.
 19. *Rudenchyk, T.V., Rozhnova, R.A., Galatenko, N.A., Nechaeva, L.Y.* The effects of the model biological medium on the structure and properties of composite materials with levamisole and the dynamics of the release of a drug substance. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, 2018, **5**: 140–148. ISSN 0321-4095.
 20. *Lebediev Ye., Konstantinov Yu., Galatenko N. et al.*: *Toksykolocho-Hihienichni ta Doklinichni Doslidzhennia Polymernykh Materialiv i Vyrobyv na ikh Osnovi Medychnoho Pryznachennia*. Naukova dumka, Kyiv 2009.
 21. *Yatsenko V.P., Galatenko N.A., Pchakadze G.A.* The method of quantitative study of fibroblastic cells growth in tissue culture. *Cytology and Genetics*. 1984. 4: 280. [in Ukrainian].
 22. *Mashkovsky`j M.D.* *Lekarstvennie sredstva*, M.:OOO Y`zdatel`stvo Novaya Volna, 15-e y`zd., 2005:1200.
 23. *Bellami L.* *Infrakrasnyie spektryi molekul*. Moskva: Izdatelstvo inostrannoy literatury, 1957: 444.
 24. *Slivkin A.I., Sadchikova N.P.* *Funktsionalnyiy analiz organicheskikh lekarstvennyih veschestv*. Pod red. akademika RAMN, prof. A.P. Arzamastseva. Voronezh: Voronezhskiy gosudarstvennyiy universitet, 2007: 426. ISBN 978-5-9273-1104-0.

Received 01.06.2021

I.I. Gladyr,

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

R.A. Rozhnova,

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

e-mail: politoks@merlin.net.ua

L.F. Narazhayko,

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

L.Yu. Nechaeva,

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

S.O. Primushko,

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

e-mail: nork345@gmail.com

DEVELOPMENT AND RESEARCH OF POLYMER COMPOSITE MATERIAL WITH CEFAZOLIN BASED ON POLYURETHANE WITH ISOCYANURATE FRAGMENTS

Institute of Chemistry of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

Developed polymer composite material with Cefazolin based on polyurethane with isocyanurate fragments (PU), synthesized on the basis of polyoxypropylene glycol (POPG 1000), TDI (2,4;2,6-toluene diisocyanate) and 2,4,6-triisocyanate(trisexamethylene) isocyanate (ICC, Tolonate™ HDT-LV, MM 1200) at a ratio of NCO: OH = 1: 1 in the medium N,N'-dimethylacetamide (DMAA) and Cefazolin (CFZ). CFZ is immobilized on isocyanurate-containing polyurethane by introducing a solution of CFZ with DMA into the reaction the amount of 5 wt. %. The synthesized polymeric material (PU-CFZ) represents a transparent film of yellow color with physical and mechanical characteristics: $\sigma = 0,15$ MPa; $\epsilon = 63,40\%$. According to IR spectroscopy, Cefazolin is immobilized on the polymer matrix by physically due to hydrogen interactions. The influence of biological medium 199 (BM 199) on the structure and properties of PU-CFZ during incubation for 1, 3 and 6 months was studied. It was found that after incubation in BM 199, the structure of PU-CFZ changes as a result of the interaction of enzyme molecules that are part of BM 199 with urethane and amide groups of PU. According to the results of physical and mechanical studies, after incubation in BM 199 for 6 months, PU-CFZ samples are characterized by tensile strength of 0.36 MPa and elongation at break of 98%, ie retain sufficient performance for use in biological objects for up to 6 months. Composite materials with Cefazolin are able to prolong the release of the drug for 28 days in an amount of about 30%, which is sufficient to provide a local therapeutic effect. According to the results of the cytotoxicity study of the developed material by in vitro tissue culture, it was found that the composite material based on isocyanurate-containing polyurethane with Cefazolin is biocompatible.

Key words: polyurethanes (PU), isocyanurates, Cefazolin (CFZ), biodegradation, biocompatibility.