

---

# НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЛЕНОЧНЫЕ ПОКРЫТИЯ

---

В настоящее время широкое применение в хирургической практике получили полимерные пленочные покрытия с лечебным эффектом, которые используют как перевязочный материал после хирургического вмешательства при лечении различных патологий, в том числе при пластических операциях [1–3]. Чаще всего лекарственное вещество присутствует в предлагаемых пленочных материалах как наполнитель, который в процессе использования быстро диффундирует в окружающие ткани. Это не позволяет использовать пленочные покрытия как универсальные при различных патологических повреждениях кожных покровов. Известно, что в живых организмах существует единый путь регенерации при различных повреждениях, что позволяет предположить возможность создания полимерного материала с собственной прорегенераторной активностью, из которого можно в дальнейшем получать универсальные пленочные покрытия и имплантанты для лечения различных патологических процессов. Одним из путей получения полимерных материалов с собственной биологической активностью является ковалентное связывание лекарственного вещества с полимерным носителем [1, 3, 4].

В качестве лекарственного вещества обладающего выраженным прорегенераторным действием привлекает внимание фолиевая кислота (ФК, N-птероил-L-глутаминовая кислота), которая в составе полимерного носителя будет способствовать стимуляции регенераторных процессов.

ФК проявляет свою биологическую активность за счет наличия птеридинового цикла путем присоединения атомов водорода к атомам углерода и азота в положениях С-6, С-7 и N-5, N-8 с образованием тетрагидрофолиевой кислоты, которая выполняет биохимическую функцию кофермента в межмолекулярном транспорте одноуглеродных групп разной степени окисления [5], что является очень важным для дальнейшего синтеза нуклеиновых кислот (РНК и ДНК). Введение в состав полимерного носителя фолиевой кислоты позволит получить полимерный материал с прорегенераторными свойствами.

Разработка новых биологически активных полимерных материалов или материалов с собственной биологической активностью требует в первую очередь подтверждения эффективности при их использовании, поэтому очень важно создать модель операции и определить показатели, позволяющие в полной мере оценить биологическую активность данного материала.

**Цель работы** заключалась в изучении эффективности разработанных пленочных материалов на основе фолатосодержащих полиуретанмочевин с целью их дальнейшего использования как новых биологически активных пленочных покрытий с регенераторными свойствами.

## Материалы и методы

Для изучения фармакокинетики пролонгированной формы фолиевой кислоты была разработана модель поражения печени (жировая дистрофия) у экспериментальных животных – белых крыс путем алкоголизации. Животных на протяжении месяца запаивали 15 %-ным раствором этанола в воде.

В эксперименте были использованы белые крысы (самцы, вес 150–200 г). Животные были разделены на две группы. Первой группе имплантировали пленки полиуретанмочевин без содержания фолиевой кислоты (контроль). Второй группе имплантировали пленки с фолиевой кислотой. Крыс забивали

Галатенко Н. А.<sup>1</sup>,  
Рожнова Р. А.<sup>1</sup>,  
Андрюшина Е. С.<sup>1</sup>,  
Демченко И. Б.<sup>1</sup>,  
Кебуладзе И. М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика

© Галатенко Н. А.,  
Рожнова Р. А.,  
Андрюшина Е. С.,  
Демченко И. Б.,  
Кебуладзе И. М.

на 7, 14, 30 сутки методом декапітатії. Сыворотку крові отримували інкубуванням крові в термостаті на протязі 30 хвилин при температурі 37 °С з подальшим центрифугуванням при 3000 об/хв. Отриману сыворотку використовували для визначення активності глутаматдегідрогенази. Активність глутаматдегідрогенази визначали спектрофотометричним методом по зміні оптичної щільності НАД-Н<sub>2</sub> при 340 нм на одиницю часу. Як субстрат використовували α-кетоглутарат і солі амонію [7, 8].

Для спектрофотометричного визначення динаміки виходу фолієвої кислоти були використані зразки в формі плівок розміром 10х10 мм складу МДІ-ФК; МДІ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1); МДІ-ДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=1:1); МДІ-3ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=3:1); МДІ-3ДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=3:1) (спробні), зразки МДІ-ГМДА, МДІ-ДАДФ (контрольні).

Зразки субкутально імплантували експериментальним тваринам (білим мишам-самцям, 150-200 г.) на терміни 3, 7, 14 і 30 днів. Після цих термінів тварин виводили з експерименту передозировкою серним ефіром, зразки виводили, промивали дистильованою водою і висушували до постійної маси.

Гістологічні дослідження були проведені на 30 білих лабораторних мишах. Експериментальний матеріал полімерних імплантів МДІ-ГМДА і МДІ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) в умовах асептики субкутально імплантували в область спини. Тварин виводили з експерименту передозировкою ефіром на 14, 30, 60 днів після операції.

Для морфологічного аналізу після стандартної гістологічної обробки (фіксація в 10 %-ному розчині формаліну, дегідратація в зростаючих концентраціях етанолу, заливка в парафін) з'єднаної тканинної капсули, яка формувалася навколо імплантованого матеріалу, були зроблені зрізи товщиною 10-15 мкм, які фарбували гематоксином і еозином.

## Результати і обговорення

В відділі полімерів медичного призначення ІХВС НАН України був синтезований ряд плівкоутворюючих поліуретанмочевин (ПУМ) на основі макродіізоціанату (МДІ), діамінів (ДА) (1,6-гексаметилендіаміну (ГМДА), 4,4'-діамінодіфенілметану (ДАДФ)) і фолієвої кислоти при різних мольних співвідношеннях ДА: ФК як 1:1, 3:1, 10:1 відповідно [6]. Введення в склад полімерного носія фолієвої кислоти дозволило отримати матеріали, що мають власну біологічну активність.

Проведені фізико-хімічні і фізико-механічні дослідження показали (табл. 1), що в ряду синтезованих ПУС з збільшенням вмісту ФК спостерігається зменшення значень характеристичної в'язкості, фізико-механічних показників і молекулярної маси. По результатам ексклюзивної хроматографії синтезовані ПУМ охарактеризовані як індивідуальні полімери без низькомолекулярних домішок, що свідчить про те, що синтез відбувся без утворення побічних речовин з виснаженням всіх вихідних компонентів. Враховуючи подальше використання синтезованих ПУС як імплантаційних матеріалів, оптимальні фізико-механічні властивості має полімер ПУМ-4, в якому співвідношення ГМДА ФК= 10: 1.

Відомо, що фолієва кислота – вітамін В<sub>6</sub> в першу чергу в організмі впливає на ферменти – амінотрансферази, каталізуючі міжмолекулярний перенос аміногруп між амінокислотами і кетокислотами. Переамінування йде в присутності кофермента – фосфопіридоксалу, який є похідним вітаміну В<sub>6</sub> [7].

Найбільше клініко-діагностичне значення мають дві амінотрансферази аспаратамінотрансфераза (АСТ) і аланінамінотрансфераза (АМТ).

**Таблица 1.**  
**Физико-химические и физико-механические свойства ПУМ с фолиевой кислотой**

ПУМ	Соотношение компонентов	$[\eta]$ , 1/1	$\sigma$ , МПа	$\epsilon$ , %	$M_{\eta}$
ПУМ-1	ГМДА: ФК = 0:1	0,03	0,11	16	68000
ПУМ-2	ГМДА: ФК = 1:1	0,10	0,18	28	216000
ПУМ-3	ГМДА: ФК = 3: 1	0,28	0,20	568	253000
ПУМ-4	ГМДА: ФК = 10:1	0,60	2,2	993	338000

**Таблица 2.**  
**Активность ГлДг в сыворотке крови крыс, которым имплантировали пленки ПУМ с фолиевой кислотой (нмоль/см<sup>3</sup>•мин)**

Норма*	7 суток		14 суток		1 месяц	
	Контроль**	Опыт***	Контроль**	Опыт***	Контроль**	Опыт***
0,51	1,54	1,02	1,64	1,23	1,23	0,41
0,77	1,64	0,92	1,64	0,80	1,44	0,82
0,62	1,59	1,13	1,60	0,72	1,34	0,62
$\bar{A}=0,63\pm 0,08$	$\bar{A}=1,59\pm 0,029$	$\bar{A}=1,02\pm 0,06$	$\bar{A}=1,63\pm 0,014$	$\bar{A}=0,92\pm 0,16$	$\bar{A}=1,34\pm 0,06$	$\bar{A}=0,62\pm 0,12$
Коэффициент Стьюдента						
		t=8,6		t=4,4		t=5,5

**Примечания.** \* – Активность ГлДГ в сыворотке нормальных крыс;  
\*\* – Активность ГлДГ в сыворотке алкоголизованных крыс, которым имплантировали ПУМ пленку (контроль)  
\*\*\* – Активность ГлДГ в сыворотке алкоголизованных крыс, которым имплантировали ПУМ пленку с фолиевой кислотой.

Повышение активности аминотрансфераз в сыворотке крови отмечено при целом ряде заболеваний, в том числе при заболеваниях печени. При заболеваниях печени может наблюдаться незначительное или сильное повышение активности фермента ГлД, в зависимости от степени вовлечения паренхиматозных клеток в патологический процесс.

Изучена фармакокинетика фолиевой кислоты при имплантации фолатосодержащих полиуретанмочевин синтезированных при мольном соотношении 1,6-гексаметилендиамина к фолиевой кислоте как 3:1. Под влиянием пролонгированной формы фолиевой кислоты через 1 месяц имплантации активность глутаматдегидрогеназы в крови алкоголизованных животных приходит в норму по сравнению с активностью данного фермента в крови животных контрольной группы (табл. 2).

При разработке новых имплантационных материалов с биологической активностью одним из важнейших этапов работы является изучение динамики выхода биологически-активного соединения в окружающие ткани, а также изучение местной тканевой реакции на имплантируемый материал.

Динамику высвобождения водорастворимых лекарственных препаратов из полимерных носителей принято изучать с использованием методик, где как модельная среда используется дистиллированная вода или физиологический раствор [9]. В связи со слабой растворимостью фолиевой кислоты в воде [10] изучение этого процесса *in vitro* невозможно, поскольку высвобождение этого

лекарственного вещества из полимерной матрицы при имплантации происходит под влиянием внутренней среды организма, с подключением сложных ферментативных систем.

Учитывая вышесказанное, количество фолиевой кислоты, которая может выйти из синтезированных полиуретанмочевин, изучали путем спектрофотометрического определения ФК в исследованных ПУМ после их имплантации экспериментальным животным. Количество препарата, который высвобождался в окружающую имплантат среду, рассчитывали по разнице между известным количеством ФК, введенной в полимер до имплантации и после имплантации, найденной по калибровочному графику [8].

Как показали проведенные исследования (рис. 1, табл. 3), для образцов всех исследуемых полиуретанмочевин характерно постепенное высвобождение ФК.

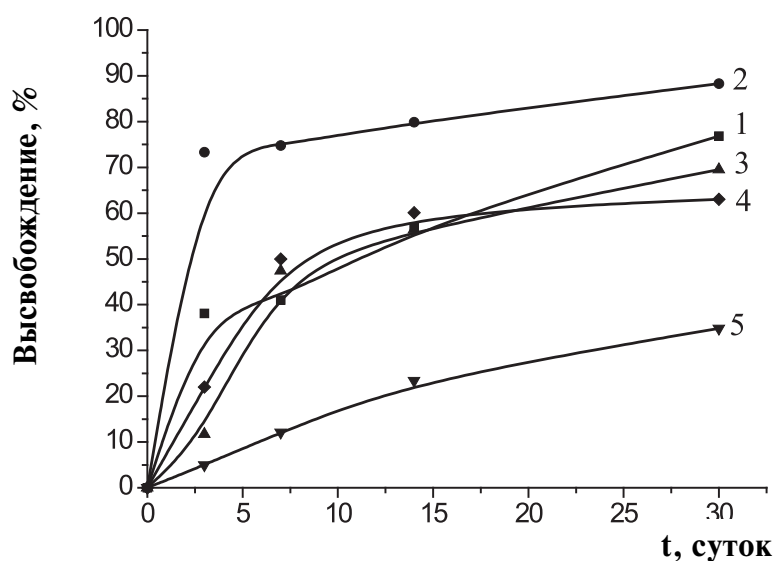


Рис. 1 Динамика высвобождения (%) ФК из полимерных лекарственных форм *in vivo*:  
 1 – МДИ-ФК,  
 2 – МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1),  
 3 – МДИ-ДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=1:1),  
 4 – МДИ-ЗГМДА-ФК (ГМДА: ФК=3:1),  
 5 – МДИ-ЗДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=3:1)

Суммарное количество высвобожденного лекарственного вещества из образцов ПУМ в организм экспериментальных животных составлял 34,8 – 88,3 % от общего количества иммобилизованного препарата.

Наиболее интенсивно ФК высвобождалась из образцов ПУС на всех сроках пребывания *in vivo*, где как удлинитель макроцепи был использован ГМДА, что объясняется более гибкими сегментами макромолекулы. Можно предположить, что в случае образцов ПУМ, где удлинителем макроцепи является ДАДФ, интенсивному высвобождению ФК препятствуют жесткие сегменты ароматических колец диамина.

С целью изучения реакции окружающей тканей были проведены гистологические исследования.

Макроскопически вокруг имплантированных образцов на всех сроках исследования наблюдалась соединительнотканная капсула, которая была плотно соединена с поверхностью имплантированных образцов, по структуре не отличающаяся от тканей прилежащих к месту имплантации.

На 14 сутки после операции вокруг имплантированных образцов МДИ-ГМДА наблюдалась тонкая, полностью сформированная и зрелая соедини-

**Таблица 3.**  
**Высвобождение ФК из образцов исследуемых полиуретанмочевин**

Время выхода, сутки	Оптическая плотность (D)	Концентрация ФК %, мг/мл	Количество высвобожденной ФК, %
<b>МДИ-ФК</b>			
3	0,329±0,006	0,0143	38,1
7	0,310±0,016	0,0136	41,0
14	0,230±0,012	0,0099	56,9
30	0,124±0,002	0,0054	76,8
<b>МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1)</b>			
3	0,092±0,007	0,0037	73,3
7	0,084±0,004	0,0035	74,8
14	0,065±0,009	0,0028	79,9
30	0,037±0,008	0,0016	88,3
<b>МДИ-ДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=1:1)</b>			
3	0,245±0,005	0,017	11,7
7	0,217±0,017	0,0095	47,4
14	0,190±0,005	0,0083	56,4
30	0,124±0,006	0,0055	69,5
<b>МДИ-3ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=3:1)</b>			
3	0,312±0,012	0,0137	22,0
7	0,207±0,017	0,0093	50,0
14	0,166±0,004	0,0074	60,1
30	0,150±0,005	0,0064	63,0
<b>МДИ-3ДАДФ-ФК (ДАДФ: ФК=3:1)</b>			
3	0,202±0,001	0,0087	5,0
7	0,186±0,004	0,0079	12,1
14	0,156±0,002	0,0070	23,4
30	0,135±0,005	0,0063	34,8

тельнотканная капсула, которая содержала пучки коллагеновых волокон и веретенообразные фибробластические элементы между ними. На отдельных участках наблюдались остаточные явления круглоклеточной инфильтрации, основными элементами которой были лимфоциты и макрофаги (рис. 2). На данном сроке исследования оказывались одиночные кровеносные сосуды с нормальной микроциркуляцией.

Через 1 месяц после операции вокруг имплантированных образцов серии МДИ-ГМДА наблюдалась зрелая соединительнотканная капсула. На отдельных участках внутренний пласт капсулы характеризовался наличием ярко выраженной круглоклеточной реакции (рис. 3). Толщина капсулы увеличивалась за счет пролиферации фибробластических элементов и активного синтеза ими коллагеновых волокон. При этом наблюдалось ухудшение микроцирку-

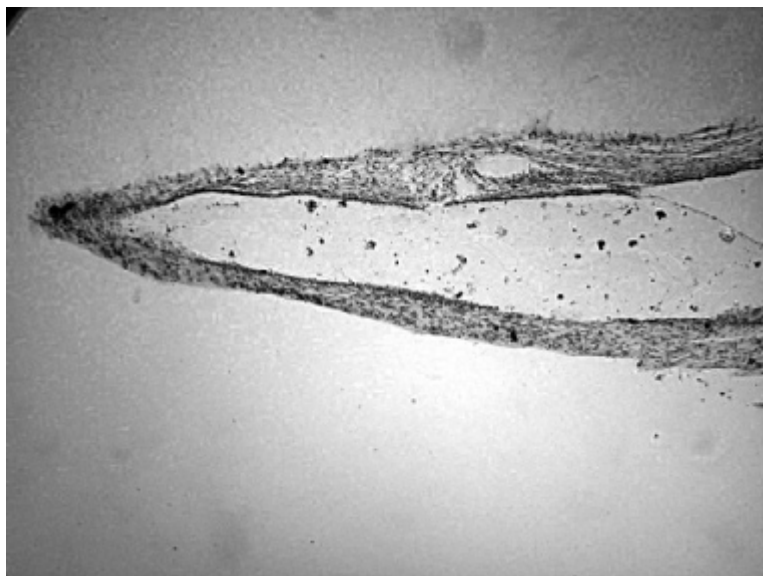


Рис. 2 Соединительнотканная капсула вокруг имплантированного образца МДИ-ГМДА на 14 сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. x100



Рис. 3 Фрагмент соединительнотканной капсулы с ярко выраженной круглоклеточной инфильтрацией и полнокровными кровеносными сосудами вокруг имплантированного образца МДИ-ГМДА через 1 месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. X100

ляторных процессов, где в зоне размещения имплантата оказывалось много полнокровных и расширенных кровеносных сосудов.

Через 3 месяца после операции вокруг имплантированного образца МДИ-ГМДА соединительнотканная капсула имела разную степень зрелости по всей своей длине. На одних участках наблюдались пучки коллагеновых волокон с веретенообразными фибробластами между ними, на других характерной была ярко выраженная круглоклеточная реакция, преобладающим количеством в которой были макрофагальные элементы. Надо отметить, что на данном сроке исследования наблюдалось много новообразованных кровеносных сосудов небольшого размера с нормальной микроциркуляцией.



Рис. 4 Полимерный имплантат МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) окруженный тонкой соединительнотканной капсулой через 1 месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. X100

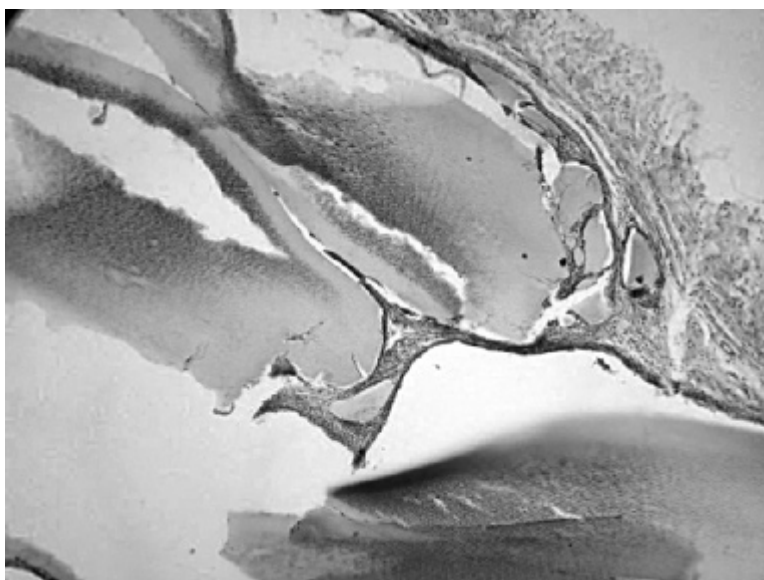


Рис. 5 Прорастание молодой соединительной ткани вглубь имплантированного образца МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) через 3 месяца после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. X100

Таким образом, реакция на имплантацию образцов МДИ-ГМДА на ранних сроках исследования (14 суток) была типичной для реакции асептического воспаления в месте размещения имплантата. На более поздних сроках исследования (через 1 и 3 месяца имплантации) степень зрелости соединительнотканной капсулы была разной и носила двойственный характер: на некоторых участках наблюдались пучки плотнорасположенных коллагеновых волокон и веретенообразные фибробластические элементы между ними, на других — ярко выраженная круглоклеточная реакция, в основном макрофагальная. Фактический рост количества макрофагов мог свидетельствовать об увеличении фагоцитарной активности и, как следствие, о возможном процессе

деструкции полимерного образца под действием внутренней среды организма экспериментальных животных.

На 14 сутки после операции вокруг имплантированных образцов МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) наблюдалась довольно тонкая и зрелая соединительнотканная капсула, которая представлена колагеновыми волокнами и веретенообразными фибробластическими элементами между ними. На отдельных участках соединительнотканной капсулы наблюдалось скопление лейкоцитов и макрофагов, а также мелких кровеносных сосудов.

Через 1 месяц после операции вокруг имплантированных образцов МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) наблюдалась довольно тонкая соединительнотканная капсула (рис. 4). На отдельных участках капсулы наблюдалась ярко выраженная круглоклеточная инфильтрация, которая усиливалась в сравнении с предыдущим сроком исследования. Количество кровеносных сосудов было незначительным. Надо отметить, что на данном сроке исследования начиналась частичная деструкция имплантированного материала, которое выражалось в фрагментации полимерного образца и прорастанием молодой соединительной ткани вглубь полимера.

Через 3 месяца после операции вокруг имплантированного образца МДИ-ГМДА-ФК (ГМДА: ФК=1:1) гистологическая картина вокруг полимерных образцов не отличалась от предыдущего срока наблюдения. Однако следует усиление к данному сроку процесса биодеструкции и степени зрелости соединительнотканной капсулы вокруг имплантатов (рис. 5).

Таким образом, клеточные реакции на имплантацию полимерного образца с ФК были характерными для нормального заживления операционной травмы и были физиологическим ответом живого организма на присутствие инородного тела. Установлено, что ФК в составе полимерного материала имела стимулирующее действие на клеточные реакции в местах размещения имплантата, что приводило к образованию тонкой и зрелой соединительнотканной капсулы уже на ранних сроках исследования. При этом значительно уменьшалась интенсивность инфильтрации лейкоцитарных и лимфоцитарных элементов. Макрофагальные элементы проявляли ярко выраженную фагоцитарную активность, что выражалось увеличением их количества и частичной биодеструкции материала уже через 1 месяц после имплантации.

## ВЫВОДЫ

Проведены исследования по изучению динамики высвобождения фолиевой кислоты и фармакокинетики ее пролонгированной формы. Полученные результаты свидетельствуют о биологической активности разработанных полимерных материалов, а так же о возможности регулирования высвобождения фолиевой кислоты из полиуретанмочевин путем варьирования мольного соотношения диамина к иммобилизованному лекарственному веществу.

Гистологические исследования при субкутальной имплантации образцов фолатосодержащих полиуретанмочевин в организм экспериментальных животных показали, что исследуемые полимеры являются биосовместимыми. Установлено, что ФК в составе полимерного материала оказывала ингибирующее действие на воспалительные процессы в местах имплантации, что приводило к образованию тонкой и зрелой соединительнотканной капсулы уже на ранних сроках исследования.

В результате проведенной работы были разработаны новые пленкообразующие фолатосодержащие полиуретанмочевины с собственной биологической активностью, которые с успехом могут быть использованы как биологически активные полимерные покрытия медицинского назначения.



1. Лившиц В. С. Полимерные покрытия на раны и ожоги / В. С. Лившиц // Химико-фармац. журнал. – 1988. – Т. 22, № 7. – С. 790-795.
2. Фельдштейн М. М. Полимерные покрытия для лечения ран и ожогов / М. М. Фельдштейн, В. С. Якубович, Л. П. Раскина, Т. Т. Даурова // Химия и технология медико-биологических полимеров. Сер. Химия и технология высокомолекулярных соединений. – М.: ВИНТИ. – 1981. – Т. 16. – С. 120-167.
3. Жернова Л. М., Луговська Г. Г., Починок О. В., Галатенко Н. А. Поліуретанові плівкові матеріали зі стійкою антибактеріальною активністю, що містять декаметоксин // Композиційні полімерні матеріали. – 2001, № 10. – С. 139-143.
4. Коршак В. В. Полимеры в процессах иммобилизации и модификации природных соединений / В. В. Коршак, М. И. Штильман. – М.: Наука, 1984. – 261 с.
5. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. – К. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2009. – 664 с.
6. Андриюшина О. С., Рожнова Р. А., Галатенко Н. А., Наражайко Л. Ф. Синтез та властивості біологічно активних поліуретансечовин з фолієвою кислотою // НАУКОВІ ЗАПИСКИ. Хімічні науки і технології. – Т. 105. – 2010. – С. 47-50.
7. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. Ленинград: Медицина, 1976. – С. 41.
8. Введение в клиническую энзимологию / И. И. Иванов Б. Ф. Коровкин И. М. Маркелов Ленинград: Медицина, 1974. – 277 с.
9. Рожнова Р. А. Дослідження ефективності полімерних лікарських форм НПЗП на основі сегментованих поліуретанових еластомерів *in vivo* / Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко, Є. С. Савицька, Л. Ю. Нечаєва, Є. Г. Левенець // Полімерний журнал. – 2008. – Т. 30, № 3. – С.256-261.
10. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М.: Медицина, 1998. – Ч. 1. – 736 с.

## ЛИТЕРАТУРА

## НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЛЕНОЧНЫЕ ПОКРЫТИЯ

## РЕЗЮМЕ

Галатенко Н. А.<sup>1</sup>, Рожнова Р. А.<sup>1</sup>, Андриюшина Е. С.<sup>1</sup>, Демченко И. Б.<sup>1</sup>,  
Кебуладзе И. М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины, Киев;

<sup>2</sup>Национальная медицинская академия последипломного образования  
имени П. Л. Шупика.

Изучена фармакокинетика и динамика высвобождения фолиевой кислоты их фолатосодержащих полиуретанмочевин различного химического состава. Установлено, что эффективное действие фолатосодержащих полимерных материалов заключается в уменьшении воспалительных реакций при имплантации и образовании зрелой и тонкой соединительнотканной капсулы, что позволяет использовать полученные материалы как биологически активные пленочные покрытия в медицинской практике.

**Ключевые слова:** пленочные покрытия, биологическая активность, фолиевая кислота, полиуретанмочевина.

**SUMMARY****NEW BIOLOGICALLY ACTIVE FILM COVERINGS**

**<sup>1</sup>Galatenko N. A.<sup>1</sup>, Rozhnova R. A.<sup>1</sup>, Andrushina Ye. S.<sup>1</sup>,  
Demchenko I. B.<sup>1</sup>, Kebuladze I. M.<sup>2</sup>.**

*<sup>1</sup>Institute of Macromolecular chemistry NAS of Ukraine, Kiev*

*<sup>2</sup>National Medical Academy postgradualional educations  
by P. L. Shupic*

The pharmacokinetics and drug release of folic acid from polyurethane ureas with various chemical compounds is studied. It is established that effective action folate-containing polymeric materials consists in inhibition of inflammatory reactions at implantation about formation mature and thin connective-tissue capsules that allows to use the received materials as biologically active film coverings in medical practice.

**Keywords:** film coverings, biological activity, folic acid, polyurethane urea.