

На правах рукописи

Алешина Елена Юрьевна

**ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА
ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ И ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА
ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, СОДЕРЖАЩИХ
ПРОТЕАЗУ С И ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН**

(02.00.06 - Высокомолекулярные соединения)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва 2003

Работа выполнена на кафедре технологии химических волокон Московского государственного текстильного университета имени А.Н. Косыгина

Научный руководитель:

доктор химических наук
профессор Гальбрайт Л.С.

Официальные оппоненты:

доктор химических наук
профессор Штильман М.И.
доктор химических наук
Кильдеева Н.Р.

Ведущая организация: Центр "Биоинженерия" АН РФ.

Защита состоится "___" _____ 2003 г. в ___ час ___ мин на заседании диссертационного совета Д 212.139.01 в Московском государственном текстильном университете им. А.Н. Косыгина по адресу: 119991, Москва, М. Калужская, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского государственного текстильного университета им. А.Н. Косыгина

Автореферат разослан "___" _____ 2003 года

Ученый секретарь диссертационного
совета

 д.х.н. Зубкова Н.С.

2003-А

16007

Актуальность проблемы. Стремительно растущий уровень медицинских технологий является движущей силой развития смежных отраслей науки и техники, в частности химии биополимеров. Успех многих хирургических операций, особенно заканчивающихся дерматопластикой, во многом зависит от послеоперационного ухода за раной, т.е. от качества перевязочных средств, функции которых в настоящее время значительно расширились и заключаются не только в защите раны от внешних воздействий. В связи с этим задача создания раневых покрытий, обладающих комбинированным лечебным действием, одним из наиболее перспективных типов которых являются покрытия на основе синтетических и натуральных полимеров, содержащие иммобилизованные ферменты и антимикробные или иные лекарственные вещества, уже на протяжении многих лет остается актуальной.

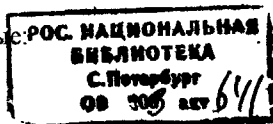
Сложность одновременной иммобилизации фермента и биологически активного вещества другой химической природы, в частности антимикробного, заключается в возможности инактивации протеазы. В этой связи большой интерес представляет использование мягких способов иммобилизации, к числу которых относятся комплексообразование с полиэлектролитами. Исследование закономерностей формирования структуры и взаимосвязи состава, структуры и свойств полимерных композиций, содержащих фермент и биологически активное вещество другого типа, позволит разработать способы получения полимерных материалов с комплексным биологическим действием и расширить арсенал имеющихся перевязочных средств.

Цель работы заключалась в разработке научных принципов создания пленочных материалов с протеолитическим и антимикробным действием и изучении физико-химических и медико-биологических свойств созданных раневых покрытий.

В соответствии с поставленной целью были поставлены следующие задачи:

- изучить процесс комплексообразования между протеолитическим ферментом протеазой С и полиэлектролитами (альгинатом натрия и солями полигексаметиленгуанидина) в водной среде;
- исследовать влияние степени ионизации и молекулярной массы полимерного антимикробного вещества, а также состава полимерной композиции на активность, стабильность и рН-оптимум протеолитического фермента;
- изучить влияние введения добавок биологически активных и модифицирующих веществ на реологические свойства формовочных композиций;
- изучить влияние состава формовочных растворов на специальные свойства поливинилспиртовых пленок, содержащих протеазу С, полимерное антимикробное вещество и модифицирующие добавки: кинетику десорбции антимикробного вещества и инактивации иммобилизованной протеазы С, устойчивость к стерилизации и физико-химические свойства;
- изучить медико-биологические свойства материалов с комплексной биологической активностью.

Научная новизна. В работе впервые



- сформулированы представления о закономерностях интерполимерной реакции в многокомпонентных водных растворах, содержащих биологически активные вещества различного строения, как реакции замещения, при протекании которой состав и свойства образующихся комплексов, содержащих протеазу С, определяются степенью ионизации полимерного поликатиона, его молекулярной массой и соотношением компонентов;
- установлено влияние введения фермента, антимикробного вещества и сшивающего реагента на структуру растворов поливинилового спирта и, как следствие, на их вязкость и энергию активации вязкого течения, обусловленные особенностями конформации как индивидуальных компонентов, так и их комплексов и химическими реакциями, протекающими в системе;
- показана возможность регулирования показателей активности и стабильности иммобилизованной в поливинилспиртовой пленке протеазы С и кинетики десорбции биологически активных веществ за счет изменения состава формовочных композиций и структуры пленки;
- установлен колебательный характер кинетических кривых паропропускания через пленки, содержащие иммобилизованные биологически активные вещества, свидетельствующий о наличии в их структуре внутренних напряжений.

Практическая значимость. Показаны пути регулирования биологических (протеолитической и антимикробной активности) и физико-механических (степени набухания и паропроницаемости) свойств поливинилспиртовых пленочных материалов с пролонгированным действием. Полученные данные о способах получения и свойствах полимерных композиций, содержащих протеазу С и полиэлектролиты, являются основой для создания полимерных пленочных материалов медицинского назначения с заданным комплексом биологических свойств.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых “Современные проблемы аэрокосмической науки” (Жуковский, 1998 г.), 1-ой Всероссийской научной конференции “Физико-химические процессы переработки полимеров” (Иваново, 1999 г.), Всероссийской научно-технической конференции “Современные технологии и оборудование текстильной промышленности” (Москва, 1999, 2001 гг.), научной студенческой конференции “Актуальные проблемы развития текстильной промышленности” (Москва, 2000 г.), Международной конференции “Синергетика макромолекулярных иерархических структур” (Ташкент, 2000 г.), 2-ом Международном конгрессе “Молодежь и наука – третье тысячелетие”/ YSTM’02 (Москва, 2002 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 145 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, методической части, обсуждения результатов, выводов, списка цитируемой литературы из 128 ссылок. Работа содержит 14 таблиц и 39 рисунков.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании процесса образования и свойств интерполимерных комплексов полиэлектролитов (ПЭ) с ферментом в качестве компонентов полимерных систем были использованы:

- протеолитический фермент с коллагенолитической активностью протеаза С (ПР), представляющий собой комплекс протеаз с разными изоэлектрическими точками (ИЭТ) от 4 до 10;
- полимерные антимикробные вещества (АМВ), перспективные с точки зрения пролонгированности антимикробного действия и низкой токсичности по сравнению с низкомолекулярными АМВ - соли полигексаметиленгуанидина (ПГМГ) - хлорид (ПГМГ(Х)) и фосфат (ПГМГ(Ф)); а в качестве низкомолекулярного лекарственного вещества - тетраборат натрия (ТБ);
- хорошо известные и используемые при получении медицинских средств полимеры - альгинат натрия (АЛГ) и поливиниловый спирт (ПВС).

Взаимодействие фермента с ПЭ, имеющими в водных растворах различную степень ионизации (ИЭТ АЛГ рН 6,5, ПГМГ(Х) рН 6,7 и ПГМГ(Ф) рН 6,9), было изучено методами нефелометрии и потенциометрии. Показано, что при этом происходит изменение рН и мутности растворов, свидетельствующее о протекании в системе межмолекулярной реакции.

Данные нефелометрических исследований растворов, содержащих ПР и АЛГ или ПР и АМВ, свидетельствуют о разном характере протекания интерполимерной реакции (ИПР) и строении частиц комплекса, что объясняется разной природой ПЭ: в полимерной композиции с АЛГ наблюдается снижение интенсивности рассеянного светового потока вследствие компактизации частиц без фазового разделения системы; в композиции ПР и ПГМГ(Х) происходит образование нерастворимого полиэлектролитного комплекса (ПЭК), при этом условия фазового разделения зависят от молекулярной массы (ММ) АМВ, степени ионизации поликатиона и состава композиции.

Реакции ПР с солями ПГМГ также протекают по-разному. При избытке в системе ПГМГ(Х) раствор полимерной композиции осветлялся до полного растворения осадка, а при избытке менее ионизированного ПГМГ(Ф) происходило фазовое разделение, что свидетельствует о лиофилизующей роли первого и гидрофобизирующей второго. Полученные данные свидетельствуют о протекании в системе фермент - ПЭ конкурентных реакций, приводящих к образованию комплексов различного состава.

В результате интерполимерного взаимодействия происходит изменение активности и стабильности фермента. При увеличении количества АЛГ в полимерной композиции свыше 0,1 % относительная активность (ОА) возрастает, а стабильность практически не изменяется. При этом снижение $K_{ин}$ свидетельствует о стабилизации фермента в результате ИПР.

В сочетании ПР с поликатионом получены композиции с разными активностью и стабильностью. ОА фермента повышалась с увеличением ММ ПГМГ(Х), а в наибольшей степени снижалась в системе с ПГМГ(Ф) (рис. 1).

Изучение процесса инаktivации ПР позволило сделать вывод о наличии в иммобилизованной ПР лабильной и стабильной форм. Эффективная константа инаktivации фермента в композициях с солями ПГМГ повышалась на порядок по сравнению с этим показателем нативной ПР. Однако при определенном составе композиции содержание стабильной формы фермента удавалось повысить до 100%; остаточная активность во многих случаях была выше на 9-58%, а содержание стабильной формы выше на 5-58%, чем нативного фермента.

Эффективная константа инаktivации стабильной и лабильной форм (рис.2) зависела от состава композиции и ММ АМВ, однако четкой зависимости характеристик иммобилизованной ПР от молекулярной массы поликатиона установить не удалось.

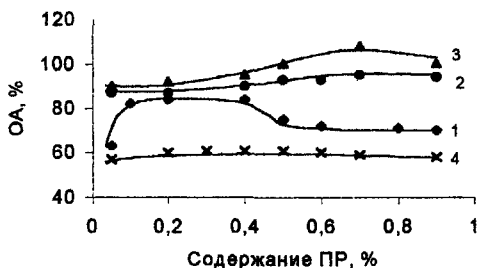


Рис. 1. Зависимость ОА фермента от состава полимерной композиции ПР-соль ПГМГ. Содержание в полимерной композиции, %: соль ПГМГ-0,1. ПР-ПГМГ(Х) - (1-3), ПР-ПГМГ(Ф)-(4). ММ ПГМГ(Х), кДа: 5 (1), 10 (2), 15 (3).

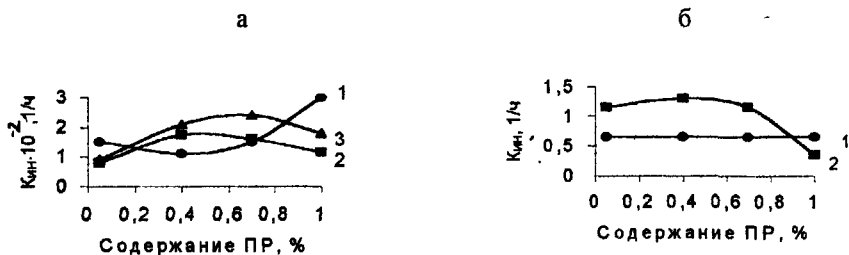


Рис. 2. Зависимость эффективной $K_{ин}$ стабильной (а) и лабильной (б) форм иммобилизованной ПР от состава полимерных композиций. Содержание в полимерной композиции ПГМГ(Х)-1%. ММ ПГМГ(Х), кДа: 5 (1), 10 (2), 15 (3).

Отмечено сохранение высокого уровня относительной и остаточной активности комплекса с ПГМГ(Х) с ММ 10 кДа во всем исследуемом интервале содержания ПР и при содержании ПР свыше 0,7% - для комплекса с ПГМГ(Х) с ММ 15 кДа и тенденция увеличения $K_{ин}$ стабильной формы фермента с повы-

шением его содержания в растворе. Вероятно, в результате изменения состава композиции происходит перестройка ПЭК, уменьшение жесткости связывания макромолекул фермента и повышение их конформационной лабильности.

Кинетика инактивации ПР в композициях, содержащих ПГМГ(Ф), описывается кривыми с максимумом, что может являться свидетельством перестройки комплексов, сопровождающейся конформационными изменениями и повышением активности. Следует отметить, что в этом случае состав композиции незначительно влияет на ОА и остаточную активность фермента, что, возможно, объясняется небольшим числом связей между белковой глобулой и компактной макромолекулой ПГМГ(Ф).

При исследовании зависимости активности композиций ПР-соль ПГМГ от рН было установлено кардинальное изменение профиля действия фермента. Нативная ПР проявляет активность в широком интервале рН с оптимумом действия в щелочной области (рН 10). В результате комплексобразования фермент в полимерных композициях различного состава имеет в различной степени выраженные максимумы действия в области рН 6, 7 - 8 и 10. Характер выявленных зависимостей свидетельствует о разрушении исходного и образовании нового ферментного комплекса. В то же время характер рН зависимости относительной активности композиций с участием ПГМГ(Ф) позволил предположить, что комплексобразование в рассматриваемом интервале концентраций не сопровождается образованием сильно отличающихся по строению комплексов, которые не претерпевают значительных конформационных изменений в исследуемом интервале рН.

Введение в раствор ПР-соль ПГМГ альгината приводит к фазовому разделению системы с одновременным повышением активности фермента в 1,3-1,45 раз. При этом зависимость ОА от содержания полианиона носила полимодальный характер.

Остаточная активность ПР значительно повышалась практически во всех случаях, особенно высокий ее уровень достигался при использовании ПГМГ(Х) с минимальной ММ или ПГМГ(Ф).

Стабильность трехкомпонентных композиций по сравнению с не содержащими АЛГ возрастала. Зависимость $K_{ин}$ стабильной формы фермента от содержания в композиции АЛГ (рис. 3) свидетельствует о сложном характере превращений в многокомпонентной системе, в различной степени отражающихся на активности и стабильности. Если при использовании в композиции в качестве АМВ ПГМГ(Ф) введение АЛГ однозначно позволяет существенно повысить стабильность фермента, то зависимость стабильности ПР от содержания полианиона для системы, включающей ПГМГ(Х), описывается полимодальной кривой. Полученные данные позволяют, таким образом, определить количество АЛГ, которое следует ввести в композицию для максимальной стабилизации фермента.



Рис. 3. Зависимость эффективной $K_{кин}$ стабильной формы иммобилизованной ПР от состава полимерных композиций ПР - соль ПГМГ-АЛГ, ПР-ПГМГ(Х)-АЛГ (1-3), ПР-ПГМГ(Ф)-АЛГ (4). Содержание в полимерной композиции, %: ПР-0,1, АМВ-0,1. ММ ПГМГ(Х), кДа: 5 (1), 10 (2), 15 (3).

Были исследованы реологические свойства ПВС формовочных растворов, содержащих ПР, АМВ и другие добавки. Введение в раствор ПВС полимеров, термодинамически совместимых с ним, разрушает структуру исходного раствора и приводит к образованию новой. Для систем с ПГМГ(Ф) область неньютоновского течения достигается при более низких градиентах скорости сдвига, чем с ПГМГ(Х). Это подтверждает образование различной структуры в системах, отличающихся качественным составом. При введении в водно-спиртовой раствор ПВС добавок протеазы С, соли ПГМГ и АЛГ происходило снижение начальной вязкости и E_a вязкого течения в результате пластифицирующего действия белка и соли ПГМГ, которые разрушают систему водородных связей между его макромолекулами и разрыхляют молекулярную упаковку ПВС.

Важной характеристикой биологически активных формовочных композиций является стабильность иммобилизованного в их структуре фермента. Было установлено, что после инкубации формовочных композиций, содержащих фермент и антимикробное вещество, при температуре 37 °С через 24 часа активность ферментов составляет 31-80% от исходной, что на 8-54% больше, чем в композиции, не содержащей ПВС.

Изучение реологических свойств формовочных композиций, содержащих фермент, полимерное антимикробное вещество в терапевтически достаточных количествах и модифицирующие добавки, показало их пригодность для дальнейшей переработки в пленочный материал.

Кинетика инактивации фермента в сформованных ПВС пленках в отличие от кинетики инактивации в полимерных композициях не могла быть описана характерными для инактивации ферментов экспоненциальными уравнениями вследствие сложности происходящих в системе процессов. Остаточная активность ПР, иммобилизованной в структуре ПВС пленок с ПГМГ(Х), сохраняется примерно на том же уровне, что и в полимерной композиции (40-65%), а в композиции с ПГМГ(Ф) повышается примерно в 2 раза (табл. 1).

При изучении степени набухания пленочных материалов разного состава

установлены существенные отличия, являющиеся следствием изменения соотношения областей с различной степенью упорядоченности. Степень набухания пленок, содержащих ПГМГ(Х), в зависимости от ММ АМВ составляет 600-690%, что значительно превосходит этот показатель пленок, в состав которых включен ПГМГ(Ф), степень набухания которых 380%. Введение полисахарида несколько нивелирует эту разницу, и степень набухания составляет 510%. Наблюдаемый факт указывает на формирование различной структуры пленочных материалов, определяющую роль в котором играет тип АМВ.

Таблица 1

Влияние состава формовочных композиций на свойства ПР,
иммобилизованной в структуре ПВС пленки

№ п.п.	*Содержание в формовочной композиции, %				ОА, %	Остаточная актив- ность, % от вве- денной
	ПР	АМВ	АЛГ	ТБ, $\cdot 10^{-3}$		
1	0,1	-	-	-	93	56
2	0,07	ПГМГ(Х) 0,1	-	-	91	28
3	0,07		1	-	108	37
4	0,07	ММ 15 кДа	-	0,7	96	15
5	0,1	ПГМГ(Х) 0,15	-	0,7	69	40
6	0,1		-	1,3	73	32
7	0,1	ММ 10 кДа	2	0,7	87	22
8	0,1	ПГМГ(Ф) 0,1	-	-	36	25
9	0,1		1	-	74	31
10	0,1		-	1,3	33	22
11	0,1		1	0,7	51	87

*Содержание в формовочной композиции, %: ПВС-9, этанол-10.

Результаты исследований реологических характеристик дают основание полагать, что наличие разупорядоченных областей в структуре пленки с участием ПГМГ(Х), несмотря на ее большую равномерность, облегчает диффузию воды и приводит к увеличению степени набухания пленки по сравнению с пленкой, в составе которой находятся глобулярные макромолекулы ПГМГ(Ф), в меньшей степени разрушающие систему межмолекулярных связей. Введение ТБ в композицию, содержащую ПР и ПГМГ(Х), приводит к некоторому снижению степени набухания вследствие образования межмолекулярных сшивок.

Полученные пленки существенно различались по кинетике десорбции антимикробного вещества. Для установления максимально возможного количества выделяемого вещества с целью создания высокого градиента концентраций использовали динамическую модель. Повышение температуры с 15 до 37 °С также способствовало выделению полимерного АМВ: количество десорбированного вещества увеличивалось в 10 раз при прочих равных условиях. Согласно полученным данным (рис. 4), кинетика десорбции различных АМВ определяется как их ММ и особенностями конформации макромолекул, так и разме-

рами образующихся в системе комплексов и изменениями в структуре пленкообразующего полимера в результате протекания химических реакций.

Данные о влиянии состава композиции на десорбцию из пленок антимикробных веществ хорошо коррелируют с результатами анализа антимикробной активности, согласно которым пленки с ПГМГ(Ф) обладают более высокой активностью, а введение АЛГ приводит к снижению активности как тех так и других пленок в 2 раза.

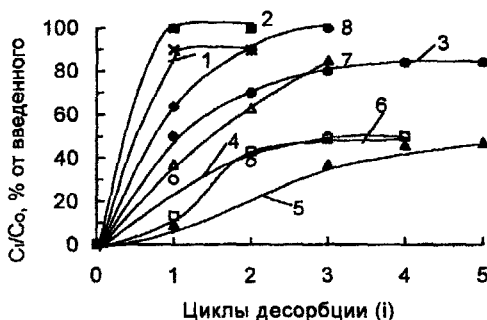


Рис. 4. Кинетика десорбции АМВ из ПВХ пленок разного состава. Содержание в формовочной композиции, %: ПР-0,1; АМВ-0,1; АЛГ-1,0 (3,4); ТБ-0 (1,5,7), $0,7 \cdot 10^{-3}$ (4, 6, 8), $1,3 \cdot 10^{-3}$ (2). ММ ПГМГ(Х), кДа: 10 (7,8), 15 (5,6). ПГМГ(Ф)-(1-4).

Структура пленок разного состава была изучена методом электронной микроскопии. Пленка, содержащая протеазу С и ПГМГ(Х), в основном однородная и не имеет структурных особенностей за исключением небольшого количества выходящих на поверхность частиц сферической формы размером 5-10 мкм. В поверхностном слое пленки с ПГМГ(Ф) находятся скопления частиц комплекса разной формы размером 5 - 50 мкм и более, в различной степени погруженных в пленку. При включении в состав пленки АЛГ происходят значительные изменения ее структуры: в результате ИПР происходит перестройка комплекса, сопровождающаяся уменьшением размера частиц и появлением довольно крупных пор, неравномерно расположенных по площади, размером 5 - 20 мкм.

При исследовании паропроницаемости пленок разного состава в условиях недостатка воды для всех пленок был обнаружен колебательный характер кинетических кривых изменения скорости паропропускания. Однако вид кривой и амплитуда колебаний зависели от характера добавок, введенных в пленку. Заметные отличия наблюдаются на начальном участке кривых: для ПВХ пленки скорость паропропускания в этом интервале постепенно растет, для пленки, содержащей полимерные добавки, снижается. Очевидно, это связано с накоплением воды в аморфных областях полимера, сопровождающимся закрытием

пор. Это приводит к возрастанию внутренних напряжений, которые система снимает раскрытием пор, что на графиках выражается скачком скорости паропропускания.

Для пленок, содержащих АМВ и АЛГ, наблюдалось увеличение амплитуды колебаний скорости, что может являться результатом возрастания доли аморфных областей и образования более крупных пор. Наиболее существенное увеличение амплитуды обнаружено для пленок, содержащих ТБ (рис. 5). Очевидно, внутри- или межмолекулярные связи, образованные с участием ТБ, а также АЛГ и ПВС, создают дополнительные напряжения в пленке. Но поскольку связи являются термолабильными, то в результате их разрыва в условиях испытаний, скорее всего, и появляются резкие скачки на кинетических кривых $\Delta W/\Delta \tau - \tau$.

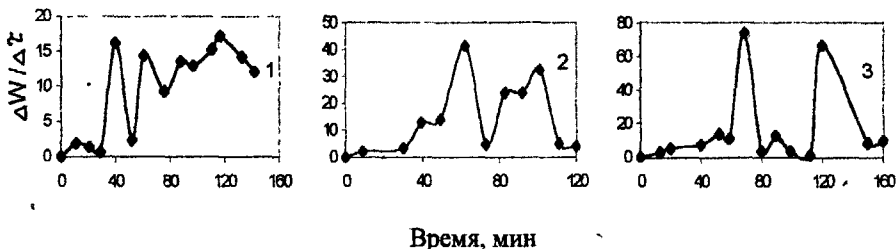


Рис. 5. Изменение скорости пропускания паров воды ПВС пленками, содержащими тетраборат натрия. 1-пленка 2; 2-пленка 4; 3-пленка 10. Номера пленок соответствуют номерам табл. 1.

Релаксация внутренних напряжений в присутствии избытка воды приведет к исчезновению осциллирующего характера кинетических кривых.

Таким образом, колебательный характер процесса паропропускания является результатом наличия внутренних напряжений в пленках, что в конечном итоге выражается в нерегулярном процессе открытия и коллапса пор.

Было исследовано влияние иммобилизации ферментов в структуре полимерных матриц на положение температурного и рН-профиля действия. Согласно полученным данным, оптимум ОА иммобилизованной протеазы С смещается из щелочной области в нейтральную. Однако фермент, включенный в структуру пленки и входящий в состав полимерных композиций, имеет разные рН-профили действия, что объясняется изменением состава формовочной композиции в процессе формирования в результате испарения растворителя, а значит, и строения образующихся ферментсодержащих комплексов.

Значение оптимума активности фермента, иммобилизованного совместно с солями ПГМГ, определяется типом модифицирующих добавок, составом десорбируемых из матрицы комплексов, структурой полимерного носителя, а также доступностью активных центров фермента, связанного в комплекс и прочно фиксированного в структуре пленки.

Протеаза С, иммобилизованная совместно в ПГМГ(Х), проявляет макси-

мальную активность при pH 8 (рис. 6), а иммобилизованного с ПГМГ(Ф) - в более широком интервале pH 7-8. В целом, сдвиг оптимума действия иммобилизованной протеазы С в нейтральную область, близкую к физиологическим значениям и pH гнойной раны, является положительным фактом.

Температурный оптимум действия иммобилизованной ПР увеличивается на 8-18 °С по сравнению с нативной лишь в случае совместной иммобилизации с ПГМГ(Ф), что, возможно, является результатом иммобилизации нерастворимых комплексов фермента в более плотной структуре пленки. В этом случае необходимая кинетическая гибкость макромолекул ПР и диффузия частиц комплекса в среду, содержащую субстрат, реализуется при более высокой температуре.

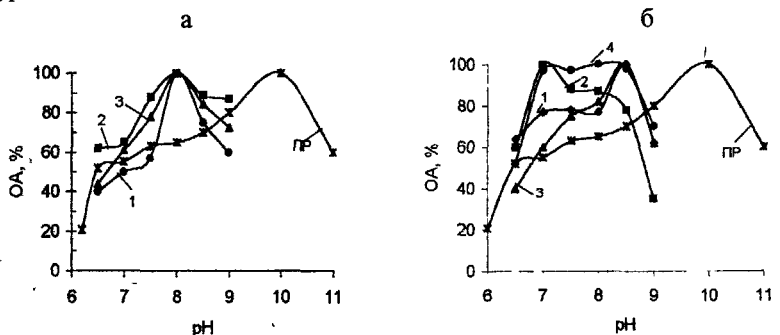


Рис. 6. pH-Профиль ферментативной активности ПВС пленок разного состава. Содержание в формовочной композиции, %: ПР-0,1; а) ПГМГ(Х)-0,1; АЛГ-1,0 (1,3); ТБ- $0,3 \cdot 10^{-3}$ (2,3), б) ПГМГ(Ф)-0,1; АЛГ-1,0 (1,2), 0 (3,4); ТБ- $1,3 \cdot 10^{-3}$ (2,4). ММ ПГМГ(Х)-15 кДа.

Важной характеристикой материалов медицинского назначения является их устойчивость к стерилизации. Установлено, что после стерилизации пленок, содержащих ПР и АМВ, ионизирующим излучением и последующем хранении в течение 2 лет при комнатной температуре активность в зависимости от состава сохраняется на уровне 70-80 %.

Выводы

С целью разработки принципов получения полимерных пленочных материалов с ферментативным и антимикробным действием исследовано влияние взаимодействия полимерных биологически активных веществ на структуру образующихся комплексов, формовочных композиций, структуру и фармакокинетические свойства поливинилспиртовых пленок.

1. Методом нефелометрии и потенциометрии установлено протекание интерполимерной реакции в водных растворах, содержащих протеазу С, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид или полигексаметиленгуанидин фосфат и альгинат натрия и высказано предположение о протекании в многокомпо-

нентной полимерной композиции реакции замещения, обусловленной способностью полиэлектролитов участвовать в реакциях ионного переноса.

2. Показана зависимость процесса комплексобразования в исследуемой полимерной системе от степени ионизации антимикробного поликатиона.
3. Установлена зависимость относительной активности, стабильности и рН-профиля действия протеазы С, связанной в комплекс с антимикробным поликатионом, от типа соли полигексаметиленгуанидина, а также от состава полимерной композиции. Использование в составе композиции полигексаметиленгуанидин гидрохлорида с молекулярной массой 10 кДа или полигексаметиленгуанидин фосфата, а также введение наряду с полимерным антимикробным веществом альгината натрия позволяет получать биологически активные композиции с относительной активностью фермента не ниже 60% и с высоким уровнем стабильности.
4. Исследование реологических свойств формовочных композиций различного состава показало, что полимерные добавки (протеаза С, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид или полигексаметиленгуанидин фосфат, альгинат натрия) в растворе поливинилового спирта снижают его вязкость и энергию активации вязкого течения.
5. Установлена существенная зависимость активности, стабильности и кинетики десорбции антимикробного вещества из пленок, содержащих комплекс биологически активных веществ, от типа антимикробного вещества и модифицирующих добавок. Снижение молекулярной массы, степени ионизации, введение тетрабората натрия приводит к увеличению количества десорбированного антимикробного вещества (с 10 до 100%). Дополнительное введение альгината или альгината и тетрабората натрия снижает количество десорбированного полимерного антимикробного вещества независимо от его типа.
6. Установлено изменение рН-профиля и сдвиг рН-оптимума действия иммобилизованной в структуре поливинилспиртовых пленок протеазы С в область более низких значений (рН 7-8,5) в результате комплексобразования фермента с поликатионным антимикробным веществом.
7. Разработан метод получения поливинилспиртового пленочного покрытия с пролонгированным биологическим действием, содержащего полимерные биологически активные вещества - фермент и антимикробное вещество и модифицирующие добавки - полисахарид и/или низкомолекулярный сшивающий реагент, с высокой стабильностью к радиационной стерилизации и последующему хранению в течение 2 лет.
8. Установлена возможность изменения в широких пределах фармакокинетических свойств (активности, стабильности и количества десорбированного антимикробного вещества) путем варьирования состава формовочной композиции, типа и молекулярной массы антимикробного вещества и модифицирующей добавки, что создает предпосылки для получения поливинилспиртовых пленок, содержащих комплекс биологически активных веществ, в качестве раневых покрытий пролонгированного лечебного действия.

9. В ходе медико-биологических испытаний *in vitro* показана зависимость антимикробной активности поливинилспиртовых пленочных материалов, содержащих протеазу С, соль полигексаметиленгуанидина и модифицирующие добавки, которая удовлетворительно коррелирует с кинетикой десорбции антимикробного вещества.

Основные результаты диссертации изложены в следующих работах:

1. Скокова И.Ф., Талаленкова О.С., Алешина Е.Ю., Елфимова Г.С., Петрова Н.Е. Разработка биологически активных материалов различного назначения // Тез. докл. Всерос. конф. "Современные проблемы аэрокосмической науки" - Жуковский, 1998. - С. 95-96.
2. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Гальбрайт Л.С., Елфимова Г.С., Петрова Н.Е., Алешина Е.Ю. Свойства композиций, содержащих биологически активные вещества, и полимерных материалов, полученных на их основе // Хим. волокна. - 1999. - № 4. - С. 32-38.
3. Skokova I.F., Yudanov T.N., Gal'braikh L.S., Elfimova G. S., Petrova N.V., Aleshina E.Yu. Properties of composites containing biologically active substances and the polymeric materials prepared from them // Fibre Chemistry. - 1999. - V. 31, № 4. - P. 283-290.
4. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Алешина Е.Ю. Поливинилспиртовые покрытия, наполненные биологически активными веществами // Тез. докл. I Всерос. науч. конф. "Физико-химические процессы переработки полимеров" - Иваново, 1999. - С. 41.
5. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Алешина Е.Ю. Биологически активные пленочные материалы: особенности получения и свойства // Тез. докл. науч. студ. конф. "Актуальные проблемы развития текстильной промышленности" - Москва, 2000. - С. 34-35.
6. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Алешина Е.Ю., Гальбрайт Л.С. Поливинилспиртовые пленочные материалы, содержащие биополимеры: получение и свойства // Хим. волокна. - 2000. - № 5. - С. 39-43.
7. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Алешина Е.Ю., Гальбрайт Л.С. Полифункциональные биологически активные поливинилспиртовые пленочные материалы // Хим. волокна. - 2001. - № 1. - С. 19-22.
8. Алешина Е. Ю., Юданова Т.Н., Скокова И.Ф. Пленочные покрытия, содержащие полимерное антимикробное вещество // Тез. докл. Всерос. науч.-тех. конф. "Современные технологии и оборудование текстильной промышленности" (Текстиль-99) - Москва, 2000. - С.135-136.
9. Алешина Е. Ю., Юданова Т.Н., Скокова И.Ф. Получение и свойства формовочных растворов на основе поливинилового спирта, содержащих протеазу С и полигексаметиленгуанидин // Тез. докл. Всерос. науч.-тех. конф. "Современные технологии и оборудование текстильной промышленности" (Текстиль - 2001) - Москва, 2002. - С.151.

10. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Алешина Е. Ю., Петрова Н.Е., Гальбрайт Л.С. Влияние структуры многокомпонентных полимерных растворов на свойства биологически активных пленок // Тез докл. Междунар. конф. "Синергетика макромолекулярных иерархических структур" - Ташкент, 2000. - С.58-59.
11. Алешина Е.Ю., Юданова Т.Н., Скокова И.Ф. Получение и свойства формовочных растворов на основе поливинилового спирта, содержащих протеазу С и полигексаметиленгуанидин // Хим. волокна. - 2001. - № 6. - С. 4-6.
12. Юданова Т.Н., Алешина Е.Ю., Саенко М.С., Гальбрайт Л.С. Надмолекулярная структура и свойства поливинилспиртовых пленок, содержащих комплекс биологически активных веществ // Хим. волокна. - 2003. - № 1. - С. 24-27.
13. Алешина Е.Ю., Юданова Т.Н. Фармакокинетические свойства поливинилспиртовых пленок, содержащих протеазу С и полимерное антимикробное вещество // Тез. докл. 2-го Междунар. конгр. "Молодежь и наука - третье тысячелетие"/YSTM'02 - Москва, 2002. - С. 86.

№ 16 007
2003-A

16007

ИД №01809 от 17.05.2000

Подписано в печать 21.10.03
Сдано в производство 21.10.03
Формат бумаги 60х84/16 Бумага множ.
Усл.печ.л. 1,0 Уч.-изд.л. 0,75
Заказ 460 Тираж 80

Электронный набор МГТУ, 119991, ул. Малая Калужская, 1