

**КИЛЬДЕЕВА Н.Р.  
ВИХОРЕВА Г.А.  
ГАЛЬБРАЙХ Л.С.**

**ВОЛОКНИСТЫЕ И  
ПЛЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ  
ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ**

**ЧАСТЬ 1  
НЕРЕЗОРБИРУЕМЫЕ  
МАТЕРИАЛЫ**

**Н.Р. Кильдеева, Г.А. Вихорева,  
Л.С. Гальбрайх**

**ВОЛОКНИСТЫЕ И ПЛЕНОЧНЫЕ  
МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ  
И БИОТЕХНОЛОГИИ**

**Ч.1. НЕРЕЗОРБИРУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

**Москва - 2014**

УДК 677.46:61

К39

Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Гальбрайт Л.С. Волокнистые и пленочные материалы для медицины и биотехнологии. Ч.1. Нерезорбируемые материалы: монография. – М.: ФГБОУ ВПО «МГУДТ», 2014. – 109 с.

Издание представляет собой первую часть монографии, в которой рассмотрены основные типы биологически активных пленочных и текстильных материалов, традиционные и современные пути медицинского использования полимерных волокон и пленок с учетом вклада, который был сделан в разные годы в развитие этого направления преподавателями и научными сотрудниками Московского государственного университета дизайна и технологии. Монография ориентирована на специалистов, магистрантов и аспирантов, специализирующихся в области технологии переработки полимеров медико-биологического назначения, биотехнологии и технологии биологически активных соединений.

Рецензенты:

- профессор кафедры сервисного инжиниринга ФГБОУ ВПО «Российский государственный университет туризма и сервиса», д.х.н. проф. Ханчич О.А.

- профессор кафедры технологии химических волокон и наноматериалов ФГБОУ ВПО «МГУДТ» д.х.н. проф. Дружинина Т.В.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках базовой части тематического плана госзадания вузам в 2014 г.*

ISBN 978-5-87055-229-3

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет дизайна и технологии», 2014

© Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Гальбрайт Л.С., 2014

© Дизайн. Обложка. Целикова Г.А., 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	4
<b>1. Общие сведения о волокнистых и пленочных материалах медицинского и биотехнологического назначения.....</b>	<b>8</b>
1.1. Волокнистые материалы для медицины и биотехнологии.....	10
1.2. Пленочные формы материалов медико-биологического назначения.....	12
1.3. Текстильные изделия медицинского назначения.....	13
<b>2. Способы получения и свойства антимикробных волокнистых материалов медицинского назначения.....</b>	<b>20</b>
2.1. Влияние прочности связи между волокнистым материалом и антимикробным компонентом на уровень антимикробного эффекта.....	21
2.2. Антимикробная активность волокнистых материалов, модифицированных антибиотиками и антисептиками.....	24
2.3. Использование наночастиц для получения биологически активных текстильных материалов.....	26
2.4. Промышленная реализация антимикробной отделки текстильных материалов.....	29
<b>3. Получение и свойства ферментсодержащих волокнистых и пленочных материалов.....</b>	<b>35</b>
3.1. Иммобилизации ферментов путем присоединения к волокнистым носителям.....	36
3.2. Закономерности иммобилизации ферментов в структуре волокон и пленок путем формования из белоксодержащих дисперсий.....	40
3.3. Волокнистые и пленочные формы гетерогенных биокатализаторов и их использование в биотехнологических процессах.....	49
<b>4. Разработка биологически активных волокнистых и пленочных материалы для хирургии.....</b>	<b>65</b>
4.1. Перевязочные материалы и раневые покрытия. Общая характеристика материалов для лечения поражений кожи.....	65
4.2. Получение пленочных раневых покрытий, содержащих иммобилизованные протеолитические ферменты.....	68
4.3. Закономерности получения и взаимосвязь строения и свойств перевязочных целлюлозных волокнистых материалов.....	78
<b>5. Нерассасывающиеся хирургические шовные нити.....</b>	<b>92</b>
5.1. Требования к хирургическим шовным нитям.....	92
5.2. Поверхностная модификация шовных нитей.....	98
5.3. Биологически активные хирургические нити.....	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	107

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из примечательных явлений развития естественных наук конца XX столетия является возникновение из классических областей науки новых научных направлений. Ярким примером, в частности, служит рождение и бурное развитие химии и технологии медико-биологических полимеров, которая возникла на стыке органической химии и химии высокомолекулярных соединений, биохимии, молекулярной биологии, фармакологии и медицины. Интерес к этой области науки диктуется двумя обстоятельствами: фундаментальностью одной из глобальных проблем естествознания – взаимодействия живого и неживого и важнейшими результатами практических применений полимеров для медицины, здравоохранения, биотехнологии.

Волокна и пленки как важнейшие физические формы имеют большое практическое значение при создании различных изделий вообще и, в частности, изделий и материалов медицинского назначения. Принципиальное отличие волокон от монолитных полимерных материалов – их дискретность. Волокнистые материалы состоят из большого числа одиночных волокон, связанных между собой силами трения или путем склеивания, переплетения, вследствие чего внешние усилия перераспределяются между отдельными волокнами, что придает тонким волокнам способность выдерживать высокие нагрузки.

Дискретность структуры волокон обуславливает еще ряд их особенностей, а именно: пористость, повышенную теплоизоляционную способность, высокоразвитую удельную поверхность, возможность образования межволоконной капиллярной системы. Высокие капиллярные свойства позволяют использовать волокнистые материалы в качестве поглотителей жидкостей организма и своеобразных резервуаров жидких лекарственных препаратов.

Можно выделить три группы волокнистых и пленочных материалов для медицинских нужд:

1-я группа – материалы, предназначенные для введения в организм (внутренние протезы и искусственные органы, материалы шовные, а также используемые в технологии лекарственных форм);

2-я группа – материалы, контактирующие с тканями организма, а также с веществами, которые в него вводятся (перевязочные материалы, тара для упаковки и хранения лекарственных средств, медицинские инструменты, узлы и детали медицинских аппаратов и приборов, в том числе полупроницаемые мембраны);

3-я группа – материалы, не предназначенные для введения и не контактирующие с веществами, вводимыми в организм (протезно-ортопедические изделия, больничная одежда, белье, постельные принадлежности).

Природные (хлопок, шелк) и химические (вискозные, полиамидные, полиэфирные, полиакрилонитрильные, полиуретановые, из хлор- и фторсодержащих полимеров и др.) волокна применяются при изготовлении перевязочных и хирургических шовных материалов, протезов кровеносных сосудов, связок, сухожилий, пищевода, гортани, а также бинтов, чулок и т.д.

Для изготовления изделий медицинского назначения используются не только традиционные природные и химические волокна и нити, но и специальные волокнистые материалы, обладающие особыми свойствами: антимикробными, гемостатическими, анестезирующими, рентгеноконтрастными, способностью рассасываться в тканях организма и совмещаться с кровью. Разработка методов получения волокнистых и пленочных материалов со специальными медико-биологическими свойствами – интереснейшая задача современной химии и технологии полимеров. Волокнистые материалы с указанными свойствами получают путем переработки из растворов или расплавов синтетических и природных волокнообразующих полимеров или путем модифицирования уже имеющихся волокнистых материалов.

Один из основоположников отечественной полимерной науки академик В.А.Каргин (1907-1969 гг.) в пятидесятые годы прошлого столетия, когда в нашей стране только появились химические волокна второго поколения (синтетические), говорил о больших перспективах и задачах использования полимеров и химических волокон в медицине. Полимеры и волокна для медицины, как и другие волокна специального назначения, - это волокна третьего поколения.

Пионерские и основополагающие исследования и разработки в области получения волокон для медицины и биотехнологии были выполнены в 70-х гг. прошлого столетия на кафедрах технологии химических волокон Ленинградского и Московского текстильных институтов (ныне Санкт-петербургский государственный университет технологии и дизайна и Московский государственный университет дизайна и технологии) под руководством видных ученых профессоров З.А.Роговина, А.И.Меоса, Л.А.Вольфа.

В настоящее время эти направления развиты в исследованиях многих специалистов. Ряд разработок уже имеют практическую реализацию при выпуске различной медицинской продукции в виде антимикробных тканей, волокнистых раневых покрытий, шовных нитей и др. Это, как правило, наукоемкие малотоннажные производства, информацию о продукции которых можно почерпнуть на сайтах соответствующих фирм. В настоящей монографии основное внимание уделено не ассортименту выпускаемых в промышленном масштабе биологически активных текстильных материалов, а научным разработкам, отражающим современные тенденции в раз-

витии методов получения полимерных материалов медико-биологического назначения, и в особенности, на основе биodeградируемых полимеров.

Расширяется круг полимеров, использование которых позволяет получать материалы с уникальными свойствами: собственной биологической активностью, высокой влагоудерживающей способностью, контролируемые или даже программируемыми сроками рассасывания полимерной матрицы или выделения лекарственных соединений. Наиболее ярким из таких полимеров является аминополисахарид хитозан. Высокая ранозаживляющая и сорбционная способность, противоопухолевая и противовирусная активности, отсутствие хронической и острой токсичности, наряду с возможностями переработки из растворов, не содержащих органических растворителей, и наличием реакционно-способных аминогрупп, способствуют широкому использованию этого биополимера в разработке новых перспективных лекарственных препаратов, средств доставки, раневых покрытий и шовных материалов для медицины.

Среди биodeградируемых полиэфиров благодаря природному происхождению особое место занимают полигидроксиалканоаты, наиболее известным из которых является полигидроксибутират. Этот биополимер, обладая всеми преимуществами термопластичных синтетических полимеров: прочностью, способностью к волокну- и пленкообразованию, не растворим в воде, но разлагается в биологических средах с образованием нетоксичных продуктов и характеризуется высокой биосовместимостью, водостойкостью и теплоустойчивостью. Эти свойства позволили создавать на его основе различные эндопротезы: материалы для временного замещения тканей организма и резорбируемых после выполнения ими биологической функции.

Путем совершенствования и разработки новых методов переработки полимеров, таких как электроформование и криотропное гелеобразование получены волокнистые материалы из нано- или ультратонких волокон, широкопористые гидрогелевые материалы различной физической формы, волокнистые материалы с наноразмерными покрытиями. Их непосредственное использование, а также включение в структуру ферментов, антибиотиков, антимикробных соединений, анестезирующих, противовоспалительных и противоопухолевых препаратов позволяет получать новые медицинские изделия, высокоэффективные биосорбенты, раневые покрытия, системы адресной доставки лекарств, матрицы для биоинженерии.

Целью настоящей монографии является анализ современных научных и научно-технических разработок в области создания полимерных материалов медико-биологического назначения, выполненных в последние десятилетия в России и за рубежом, в том числе авторами настоящей монографии. При этом основное внимание уделяется биологически активным материалам в форме пленок, мембран, волокон, нитей, тканей или нетканых материалов, а также методам их поверхностного модифицирования.

Значительная часть монографии посвящена высокопористым материалам на основе биodeградируемых полимеров, предназначенных для эндопротезирования и тканевой инженерии. Среди инновационных технологий, используемых для получения таких материалов рассмотрены методы криотропного гелеобразования, фазового разделения при формовании из смешанных растворов полимеров, метод электроформования ультратонких волокон.

Настоящее издание представляет собой первую часть монографии, в которой рассмотрены основные типы биологически активных пленочных и текстильных материалов, традиционные и современные направления медицинского использования нерезорбируемых полимерных волокон и пленок с учетом вклада, который был сделан в разные годы в развитие этого направления преподавателями и научными сотрудниками нашего вуза. Планируемая к изданию в 2015 году вторая часть монографии в значительной степени посвящена новым разработкам в области высокопористых материалов на основе биodeградируемых полимеров и инновационным способам их получения.

Монография ориентирована на специалистов, работающих в области исследования биополимеров и разработки полимерных материалов медико-биологического назначения. Кроме того, она будет полезна студентам, магистрантам и аспирантам, обучающимся по направлению «Химическая технология» и специализирующимися в области переработки полимеров, химической технологии и биотехнологии, технологии биологически активных соединений, а также специалистам в области медицины и биотехнологии.



# **1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ВОЛОКНИСТЫХ И ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛАХ МЕДИЦИНСКОГО И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

Медицина и биотехнология – это очень важные области использования полимеров вообще, волокнистых и пленочных изделий из них, в частности [1-5]. Они предъявляют общие и специфические требования к изделиям, и создание их требует проведения серьезных научных исследований.

Общее требование к волокнам и пленкам, предназначенным для использования в той или иной области медицины - это отсутствие токсичности. В зависимости от назначения необходимыми качествами должны быть относительная доступность и дешевизна – в случае организации биотехнологических производств, прочность и низкая гидрофильность – для шовных нитей, прочность и гидрофильность – для изготовления белья, высокая сорбционная способность – для впитывающих повязок, эластичность – для компрессионных повязок, повышенная прочность и хемостойкость – для имплантатов и т.д [1,5].

Гемосовместимость полимерных изделий медицинского назначения – это очень важная проблема. В разных случаях она решается разными путями. Иногда выбором предельно инертного, хемостойкого полимера, например фторсодержащего, иногда использованием высокогидрофильного гидрогелевого покрытия, иногда конструированием специальной структуры стенки сосуда, а также их гепаринизацией, т.е. присоединением природного антикоагулянта крови гепарина или его аналогов.

Известны три основных способа получения биологически активных волокон и пленок, различающиеся технологическими приемами и, главное, отсутствием или наличием химических связей между биологически активным веществом (БАВ) и полимерной матрицей, что, в свою очередь, определяет механизм и эффективность действия этих материалов [6-8].

Первый способ – нанесение БАВ на поверхность волокон или изделий без образования между ними химических связей (пропиткой раствором, эмульсией с последующим высушиванием, иногда при этом используется другой полимер, выполняющий роль «посредника», пленкообразователя).

Второй способ – включение в структуру путем введения в формовочный раствор (расплав, эмульсию, суспензию).

Третий способ – присоединение БАВ тем или иным типом химической связи.

Первый способ технологически наиболее простой, однако его применение ограничено вследствие отсутствия прочных химических связей между волоконной матрицей и БАВ, которое приводит к тому, что получаемые изделия не пригодны для многократного и продолжительного использования, поскольку активное начало (т.е. БАВ) легко и быстро удаля-

ется (уносится, смывается, диффундирует). Понятно, что такой способ не может быть использован для получения изделий, подвергающихся в процессе эксплуатации стиркам (например, бактерицидного белья), волоконных протезов сосудов, сухожилий, волокон биокатализаторов, которые работают в постоянном контакте с жидкой средой. Этот способ используют для получения ряда материалов медицинского назначения, преимущественно одноразового применения.

Второй способ – включение БАВ в структуру при формировании волокна также прост и позволяет достигать устойчивого эффекта даже при отсутствии химических связей между лекарственным веществом и волоконной матрицей. Однако число БАВ, которые могут быть введены, например, в вискозу и тем более в расплав волокнообразующего полимера, довольно ограничено, т.к. лекарственные вещества, как правило, кислото-, щелоче- и термочувствительны. Таким способом наиболее целесообразно получать модифицированные ПВС-волокна, формуемые из водных растворов, хотя указанным способом получают и вискозное волокно, содержащее антимикробное вещество гексахлорофен, а также антимикробные шовные нити из волокна фторлон.

Третий способ основан на химическом взаимодействии волокнообразующего полимера с БАВ. При этом очень важно правильно выбрать тип химических связей: наиболее прочные ковалентные, или менее прочные ионные. При выборе типа связи необходимо учитывать не только прочность закрепления БАВ в матрице, но и механизм его действия, возможность проявления максимальной активности и длительного (продолжительного) действия.

Ни один из перечисленных способов придания волокнистым и пленочным материалам биологической активности не является универсальным. Целесообразность использования того или иного способа определяется механизмом действия БАВ, условиями и возможностью его специфического взаимодействия с субстратом – веществом, на которое направлено действие, агрегатным состоянием субстрата. В ряде случаев может создаваться такая ситуация, когда прочное присоединение посредством химической связи вещества к полимерной матрице по функционально активной группе или в конформации, не обеспечивающей возможность его последующего взаимодействия с субстратом, будет причиной низкой активности биологически активного полимера даже при высоком содержании в нем БАВ [9].

Выбор способа фиксации БАВ зависит и от назначения материала. Если прочное присоединение БАВ к волоконной матрице совершенно необходимо при создании, например, биоспецифического сорбента или гетерогенного биокатализатора для организации биотехнологического процесса, то при осуществлении так называемой трансдермальной терапии, предусматривающей транспортирование лекарственного вещества через кожу,

наоборот нужно, чтобы лекарственное вещество постепенно отщеплялось от волоконной матрицы или полимерной мембраны, с контролируемой или заданной скоростью. При использовании лечебных повязок в случае быстрого отщепления БАВ уменьшаются длительность его действия и стабилизирующий эффект. При этом частые смены повязки снижают эффективность использования дорогостоящих препаратов и травмируют рану, усложняют работу медицинского персонала [10].

Биологически активные вещества при хранении, особенно во влажных условиях или при недостаточно низких температурах, инактивируются. Инактивация ферментных препаратов может происходить в результате протекания процессов автолиза, т.е. автокаталитического саморазложения белковых молекул. Присоединение их к полимерной матрице способствует повышению ее стабильности, а быстрое отщепление снижает стабильность и эффективность действия [11].

Проблема выбора типа связей лекарственного вещества с волоконной или пленочной матрицей включает необходимость рационального компромисса между прочностью его связывания, доступностью и возможностью отщепления от матрицы. Так, даже в случае, когда для проявления активности лекарственного вещества необходимо его отщепление от матрицы, их связь должна быть достаточно прочной, не разрушающейся при хранении, стирках, стерилизации.

При создании полимерных (волоконистых или пленочных) гетерогенных биокатализаторов необходимо обеспечить прочное связывание белка с матрицей, однако при этом он должен быть доступен для субстрата. Это может быть достигнуто путем использования особых методов иммобилизации ферментов, обеспечивающих формирование высокопористой структуры волокна [12].

Все это делает разработку конкретных способов получения самих биологически активных материалов достаточно сложной задачей. При этом вопросы строения и структуры волокнообразующего полимера, а также типа связей его с БАВ имеют и научное, и практическое значение. Однако затраты на создание новых материалов окупаются, так как лекарственные вещества дороги, дефицитны, нестабильны, а иммобилизация на полимерных, в частности, волоконных матрицах позволяет более рационально их использовать. Некоторые конкретные волокнистые и пленочные материалы медицинского и биотехнологического назначения и способы их получения будут рассмотрены ниже.

### **1.1. Волокнистые материалы для медицины и биотехнологии**

К биологически активным относят волокна, обладающие антимикробным (или бактерицидным), противовоспалительным, анестезирующим (или обезболивающим), кровоостанавливающим, противоопухолевым,

противоожоговым, иммунодепрессантным, биокаталитическим или иным биологическим действием [6-9]. В названиях этих волокон содержится характеристика их целевого назначения. Так, антимикробные волокна угнетают развитие болезнетворных бактерий и других простейших микроорганизмов и этим препятствуют появлению воспалительных процессов. Противовоспалительные волокна, естественно, тоже подавляют воспалительные процессы, однако в отличие от первых они не только препятствуют появлению, но и активно вмешиваются в механизм воспалительной реакции. Кровесвертывающие материалы иначе называются гемостатическими, а кроверазжижающие – антикоагулянтными. Нормальное состояние крови в организме – жидкое, а вне организма – твердое в виде сгустка. Такая связь физического состояния крови со средой бывает нарушена при некоторых видах заболеваний, например, при гемофилии или тромбофлебитах.

Иммунодепрессанты, иммуностимуляторы, иммуномодуляторы – это вещества и содержащие их материалы, которые воздействуют на иммунную систему организма. Противоожоговые материалы способствуют заживлению ожоговых ран, протеканию процессов репарации (или регенерации) обожженных тканей. Биокаталитическим действием обладают ферментсодержащие волокна. В хирургии, например, используются лизирующие волокна, содержащие протеолитические ферменты, вызывающие лизис белков и отмерших (некротических) тканей.

Первые биологически активные волокна – антимикробные были получены на основе целлюлозных волокон – хлопка и вискозных [10,13]. Хлопок и другие целлюлозные волокна обладают рядом существенных достоинств: доступностью, относительной дешевизной, безвредностью, достаточной прочностью, наличием гидроксильных функциональных групп, обеспечивающих высокую гидрофильность и способность впитывать жидкости, а также возможностью дополнительного химического модифицирования [14,15].

Из синтетических волокон похожие характеристики (наличие ОН-групп и гидрофильность) присущи поливинилспиртовому волокну, которое также используется для изготовления широкого ассортимента изделий медицинского назначения [8]. Однако не только названные волокна, но и практически любое волокно может быть использовано для медицинских целей. Разработаны способы введения функциональных групп, облегчающих последующее модифицирование для придания волокнам биологической активности [8]. Рациональный выбор типа волокна осуществляется с учетом того, для каких целей оно будет использовано, принципиальной возможности его химического модифицирования, экономических факторов.

## **1.2. Пленочные формы материалов медико-биологического назначения**

К пленочным материалам медицинского назначения следует отнести всевозможные упаковочные материалы, а также пленочные покрытия для гранулированных и микрокапсулированных лекарственных форм. Необходимость создания таких форм вызвана, во-первых, желанием устранить неприятный запах, вкус лекарственных средств и облегчить процесс их принятия, особенно детьми или тяжело и долго болеющими пожилыми людьми, во-вторых, необходимостью создания пероральной лекарственной формы (поступающей в организм через рот и далее пищевод, желудок, кишечник), вместо инъекционной. Последняя ситуация возникает, например, в том случае, когда лекарственное вещество должно действовать в кишечнике в щелочной среде, а в кислой среде желудка оно может потерять свою активность. Можно вводить его инъекционно в брюшину, а можно создать капсулу с пленочной оболочкой из кислотостойкого полимера, которая защитит его от воздействия кислого желудочного сока и высвободит только в кишечнике [3] .

Наиболее часто назначением разрабатываемых пленочных материалов является лечение ран различной этиологии: гнойных, ожоговых, операционных и т.п. [16-18]. Кроме того, пленочная форма является удобной для использования в качестве депо препаратов при трансдермальной или направленной доставке лекарственных средств. Пленочные покрытия из биополимеров используют для улучшения биосовместимости хирургических шовных нитей и эндопротезов, замещающих различные ткани организма, внутренние органы или их повреждения. В состав пленочных покрытий включают различные биологически активные соединения. Изменяя структуру или состав пленочной оболочки, можно осуществить регулирование продолжительности перехода лекарственного препарата в растворенное состояние, его точную дозировку и др. [19,20].

Среди материалов медицинского назначения есть еще и такие, которые не являются и не содержат БАВ. Это волоконные или пленочные полупроницаемые мембраны, используемые в аппаратах оксигенации (обогащения, насыщения) крови кислородом – «искусственное легкое» и внепочечного очищения крови – «искусственная почка». Используемые в этих аппаратах мембраны кроме высокой селективности и проницаемости должны обладать еще и тромбрезистентностью, т.е. совместимостью с кровью и не вызывать ее свертывания при контакте. Таким же свойством должны обладать и материалы для эндопротезирования, из которых изготавливают протезы кровеносных сосудов и эндопротезы костей, материалы для временного замещения различных тканей организма, а также шовные нити для внешних швов и ушивания хирургических повреждений внутренних органов [1,2,6].

Существует еще целый ряд направлений применения полимеров в медицине, которые в силу специфики монографии не будут в ней рассмотрены. Это полимерные лекарственные вещества, например, заменители природного антикоагулянта крови полисахаридной природы – гепарина, которые получают на основе других полисахаридов (хитозана, амилозы, декстрана). На основе декстрана – водорастворимого полисахарида микробного происхождения получают кровезаменители, которые, правда, не могут осуществлять основную функцию крови – транспортирование кислорода, но зато временно восполняют потерю крови при кровотечениях и поддерживают давление. Полимеры наряду с благородными металлами очень широко используют для изготовления различных эндопротезов (отдельных органов, суставов, молочных желез и др.) [6,7]. Лекарственные вещества могут быть присоединены к водорастворимым полимерам ковалентными связями. Такого рода водорастворимые высокомолекулярные биологически активные вещества медленнее диффундируют, чем низкомолекулярные соединения и поэтому могут использоваться при включении в волокнистые и пленочные матрицы для придания им длительного биологического действия.

Прогресс и успехи здравоохранения во многом зависят и от успешного развития научных исследований в области создания материалов медицинского назначения, важную часть которых составляют волокнистые материалы и полимерные пленки.

### **1.3. Текстильные изделия медицинского назначения**

Здравоохранение - это серьезный бизнес, успехи которого зависят не только от профессиональных медицинских работников, но и производителей разнообразных медицинских изделий. В условиях современного здравоохранения текстильные изделия находят инновационные сферы использования в областях, которые невозможно было представить всего несколько лет назад [6,22,23]. Значение текстильных материалов для медицинской отрасли и перспективы использования определяются их физическими свойствами, такими как прочность, удлинение, гибкость, эластичность, воздухо- и влагопроницаемость, а также влагоудерживающая способность. Различные сферы применения текстильных материалов в медицинской отрасли могут быть в целом охарактеризованы следующим образом:

- медицинская продукция, предназначенная для поддержания чистоты и гигиены, в том числе постельные принадлежности и одежда больных и медперсонала, наматрасники, хирургические халаты, маски для лица, головные уборы, материалы для стерилизации и обертывания, влаговпитывающие пеленки и прокладки, подгузники, тампоны и т.д;

- экстракорпоральные устройства, используемые для поддержки функций жизненно важных органов: таких как почки, печени, легких, сердца и т.п.;

- терапевтические продукты, используемые для лечения заболеваний;

- неимплантируемые материалы: салфетки, тампоны, перевязочные материалы, бинты, марля, пластырь, бандажи, ортопедические средства и др.;

- материалы, имплантируемые в человеческое тело для поддержки внутренних органов или замещения их функций.

Помимо классических имплантируемых текстильных материалов, таких как хирургические шовные нити, в последнее десятилетие возникли новые приложения в использовании волокнистых материалов. Это сосудистые трансплантаты, искусственные вены, искусственные сухожилия и связки, искусственные суставы и кости, искусственная кожа, искусственный хрящ и т.д. С целью улучшения качества медицинской помощи в качестве нового стандарта медицинской помощи вводится использование нетканых материалов в качестве дешевой одноразовой продукции, которая минимизирует риск инфекций.

В то время как традиционные сферы использования текстильных материалов в здравоохранении сохраняют свое значение, развитие современных подходов к лечению различных заболеваний привело к разработке новых материалов, основанных на инновационных исследовательских подходах, как в области текстиля, так и других направлений науки и технологии: полимерной химии, медико-биологических, фармацевтических и медицинских наук. Не так давно применение текстильных материалов в медицине начало выходить за рамки средств повседневного ухода за больными. Все чаще последние инновации в виде разнообразных тканых, нетканых и трикотажных форм текстиля находят свое применение в различных хирургических процедурах.

Для того, чтобы текстильный материал мог использоваться в медицине, он должен удовлетворять комплексу требований, основными из которых являются:

- соответствие техническим характеристикам;
- стерильность;
- антиаллергенность;
- бактериостатичность;
- экологическая безвредность;
- экономичность.

Общий эффект от использования текстильных материалов в медицинской области определяется целым рядом факторов:

- сокращение перекрестной инфекции;
- обеспечение защиты медперсонала;

- обеспечение рентабельности;
- удовлетворение рекомендаций Всемирной организации здравоохранения: использование одноразовых средств индивидуальной защиты;
- создание высокой воздухопроницаемости нетканого материала, повышающей комфорт в процессе носки;
- обеспечение возможности стерилизации с использованием различного типа техники;
- возможность защиты от статического электричества
- придание гибкости, мягкости, эластичности, обеспечивающих удобство в использовании.

По назначению и месту использования медицинский текстиль аналогично другим материалам медицинского назначения обычно разделяют на четыре крупные группы.

- текстиль для медицинского обслуживания;
- хирургические шовные материалы и перевязки;
- имплантаты и устройства;
- экстракорпоральные изделия.

В работе [22] приводятся примеры использования тканей, трикотажа, нетканых текстильных материалов на основе волокон различной природы в качестве изделий, относящихся к каждой из этих четырех групп (табл.1.1-1.3).

Таблица 1.1

Неимплантируемые материалы

Тип волокна	Структура текстильного материала	Изделие медицинского назначения
Хлопок, вискоза, лиоцелл	Нетканый	Впитывающая прокладка
Альгинатное, хитозановое и вискозное волокна, шелк, лиоцелл, хлопок	Тканый, нетканый, трикотажный	Слой перевязочного материала, контактирующий с раной
Вискозное волокно, лиоцелл, полимерная пленка	Тканый, нетканый, пленка	Подложка- наружный слой перевязочного материала
Хлопок, вискозное волокно, лиоцелл, полиамидное волокно, пряжа из высокоэластичных волокон	Тканый, нетканый	Простые неэластичные или эластичные повязки
Хлопок, вискозное волокно, лиоцелл, пряжа из высокоэластичных волокон	Тканый, нетканый, трикотажный	Поддерживающие бандажи
Хлопок, вискозное волокно, лиоцелл, пряжа из высокоэластичных волокон	Тканый, нетканый, трикотажный	Компрессионные бандажи
Хлопок, вискозное волокно, лиоцелл, полиэфирное и полипропиленовое волокно, пенополиуретан	Тканый, трикотажный	Ортопедические бандажи
Хлопок, вискозное волокно, поли-	Тканый, нетканый, три-	Пластыри



мерная пленка, полиэфирное волокно, стекловолокно, полипропиленовое волокно	котажный	
Хлопок, вискозное волокно, лиоцелл, альгинатное волокно, хитозан	Тканый, нетканый, трикотажный	Марлевая повязка
Хлопок	Тканый	Хлопковый бинт
Вискоза, хлопковый пух, древесная целлюлоза	Нетканый	Вата
Полилактидное волокно, полигликолидное волокно, углеродное волокно	Нетканый	Матрица для восстановления повреждений кожного покрова

Таблица 1.2

### Имплантируемые материалы

Тип волокна	Структура текстильного материала	Изделие медицинского назначения
Коллаген, кетгут, полигликолидное и полилактидное волокна	Моноволокна, плетеные нити	Биоразлагаемые швы
Полиэфирное и полиамидное волокна, полипропиленовое волокно, полиэтиленовое волокно	Моноволокна, плетеные нити	Бионеразлагаемые швы
Полиэфирное волокно, шелк, коллаген, полиэтиленовое волокно, полиамидное волокно	Тканый, плетеный	Искусственные сухожилия
Полиэфир, углеродное волокно, коллаген	Плетеный	Искусственные связки
Волокно из полиэтилена низкой плотности, хитин	Нетканый	Искусственная кожа
Полиметилметакрилатное волокно, пленка, силиконовое волокно, коллаген	Мембрана, нити	Контактные линзы и искусственные роговицы
Силиконовое, полиэтиленовое, полиацетальное волокна	Нити, штифты, мембраны	Искусственные суставы/кости
Полиэфирное волокно	Тканый, трикотажный	Сосудистые трансплантаты
Полиэфирное волокно	Тканый, трикотажный	Сердечные клапаны

Таблица 1.3

### Экстракорпоральные изделия

Функция	Структура материала	Экстракорпоральное устройство
Удаление продуктов обмена из крови пациента	Полое полиэфирное волокно, полые вискозные волокна	Искусственная почка
Разделение крови, удаление плазмы крови пациента и подача свежей плазмы	Полые вискозные волокна	Искусственная печень
Удаление углекислого газа из крови пациента и подача свежего кислорода	Полое полипропиленовое волокно, полая силиконовая мембрана	Механическое легкое

Таким образом, очевидно, что текстиль всегда был частью здравоохранения: сочетание технологий текстильной и медицинской науки привело к созданию медицинского текстиля. Медицинский текстиль - один из самых быстро растущих секторов мировой промышленности технического текстиля. Основные разработки в области медицинского текстиля обобщены в целом ряде обзоров [1-8]. В России на регулярной основе проводятся конференции по медицинскому текстилю, последняя из которой состоялась в Москве («Сегодня и завтра медицинского, технического и защитного текстиля. Роль традиционных и высоких технологий. Медтекстиль-2012»). В последующих главах будут в числе прочих рассмотрены публикации в области получения новых текстильных материалов медико-биологического назначения, однако без технологических и рыночных аспектов их производства, которые изложены в опубликованных обзорных статьях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Штильман М.И.* Полимеры медико-биологического назначения. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – 400 с.
2. *Платэ Н.А., Васильев А.Е.* Физиологически активные полимеры. – М.: Химия, 1986. – 296 с.
3. *Коршак В.В., Штильман М.И.* Полимеры в процессах иммобилизации и модификации природных соединений. – М.: Наука, 1984. – 261 с.
4. *Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф.* Антимикробные полимеры. – СПб.: Гиппократ, 1993. – 261 с.
5. *Марычев С.Н., Калинин Б.А.* Полимеры в медицине. Учеб. Пособие. – Владимир: Владим. гос. ун-т., 2001. – 68 с.
6. *Жуковский В.А.* Современное состояние и перспективы разработки и производства биологически активных волокнистых материалов медицинского назначения // Химические волокна.-2005.- №5.- С.32-35.
7. *Вихорева Г.А., Скокова И.Ф., Кильдеева Н.Р.* Волокнистые и пленочные материалы для медицины и биотехнологии. – М.: МГТУ им.А.Н.Косыгина, 2005. – 56 с.
8. Волокна с особыми свойствами / под ред. Л.А.Вольфа. – М.: Химия, 1980. – 236 с.
9. *Вирник А.Д.* Биологически активные волокнистые материалы. Конспект лекций. – М.: МГТА, 1992.
10. *Вирник А.Д.* Антимикробные целлюлозные волокнистые материалы // Итоги науки и техники. Сер.Химия и технология ВМС. – 1986. – № 21. – С. 35-95.
11. *Вирник А. Д., Красовская С. Б., Кильдеева Н. Р.* Получение волокнистых материалов, содержащих иммобилизованные ферменты // Промышленность хим. волокон. – М.: НИИТЭХИМ, 1995. – 85 с.

12. Кильдеева Н.Р. Научные основы получения волокнистых и пленочных биокатализаторов из белоксодержащих формовочных дисперсий: Дис. ... докт. хим. наук – М.: МГТА им. А. Н. Косыгина, 1998. – 277 с.

13. Капуцкий Ф.Н., Юркитович Т.Л. Лекарственные препараты на основе целлюлозы. – Минск: Университетское, 1989. – 200 с.

14. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Дронова М.В., Гальбрайх Л.С. Текстильные материалы медицинского назначения с комбинированным биологическим действием: получение и свойства // Текстильная химия. – 1998. – №1 (13). – С. 96-102.

15. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Гальбрайх Л.С. Получение биологически активных волокнистых материалов с заданными свойствами // Хим. волокна. – 2000. – № 6. – С. 21-24.

16. Кильдеева Н.Р., Бабак В.Г., Вихорева Г.А., Гальбрайх Л.С. Новый подход к созданию высоконабухающих перевязочных средств // Вестник МГУ (Сер. Химия). – 2000. – Т. 6. – С. 423-425.

17. Материалы IV Международной конференции “Современные подходы к разработке и клиническому применению эффективных перевязочных средств, шовных материалов и полимерных имплантатов”. – М: Институт хирургии им. Вишневского, 2001. – 159 с.

18. Loke W.K., Lau S.K., Yong L.L., Khor E., Sum C.K. Wound dressing with sustained anti-microbial capability // J. Biomed. Mater. Res. – 2000. – V. 53. – P. 8-17.

19. Севастьянов В.И. Новое поколение материалов медицинского назначения // Перспективные материалы. – 1997. – №4. – С. 56-60.

20. Biodegradable polymers as drug delivery systems / Ed. by Chasin M., Langer R. – N. Y.: Marcel Dekker, Inc., 1990. – 385 p.

21. Дубяга В.П., Перепечкин Л.П., Каталевский Е.Е. Полимерные мембраны. – М.: Химия, 1981. – 210 с.

22. Chinta S.K., Veena K.V. Impact of textiles in medical field // Int. J. of Latest Trends in Engineering and Technology. – 2013. – V. 2. – № 1. – P.142-145.

23. Кричевский Г.Е. Нано-, био-, химические технологии и производство нового поколения волокон, текстиля и одежды. – М.: 2011. – 528 с.

24. Разуваев А.В. Бицидная отделка текстильных материалов с точки зрения ее экологической безопасности: международные требования и нормативы // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2011. – Т. LV. – № 3. – С. 117-120.

25. Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Савилова Л.Б. Текстиль и медицина. Перевязочные материалы с пролонгированным лечебным действием // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – № 1. – С. 133-141.

26. Кузнецова И.В. Перспективы применения нетканых материалов в медицине // Технический текстиль. – 2001. – №1.

27. *Боссард М.* Гигиеническая защита текстильных материалов как аргумент для продажи изделий. Пример высокого маркетинга // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – №2. – С. 62-65.

28. *Пехташева Е.Л.* Биоповреждения непродовольственных товаров. – М.: Издательско-торговая корпорация "Дашков и К", 2013. – 332 с.

## 2. СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И СВОЙСТВА АНТИМИКРОБНЫХ ВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Одними из первых волокнистых материалов медицинского назначения были получены антимикробные, или бактерицидные материалы. Работы по созданию и внедрению таких материалов ведутся уже в течение 50 лет. В настоящее время именно антимикробные волокнистые материалы являются наиболее широко применяемыми в практике для борьбы с различными инфекциями и инфекционными заболеваниями.

Традиционно для придания антимикробных свойств волокнистым материалам применяют низкомолекулярные соединения (рис. 2.1). Это антисептики: соли металлов и их металлоорганические соединения, в первую очередь, серебра, меди, цинка, ртути, олова, окислители: хлор, перекиси, перманганат, спирты, фенолы, их галогенпроизводные, соли четвертичных аммониевых и фосфониевых оснований, и другие типы органических и неорганических соединений.

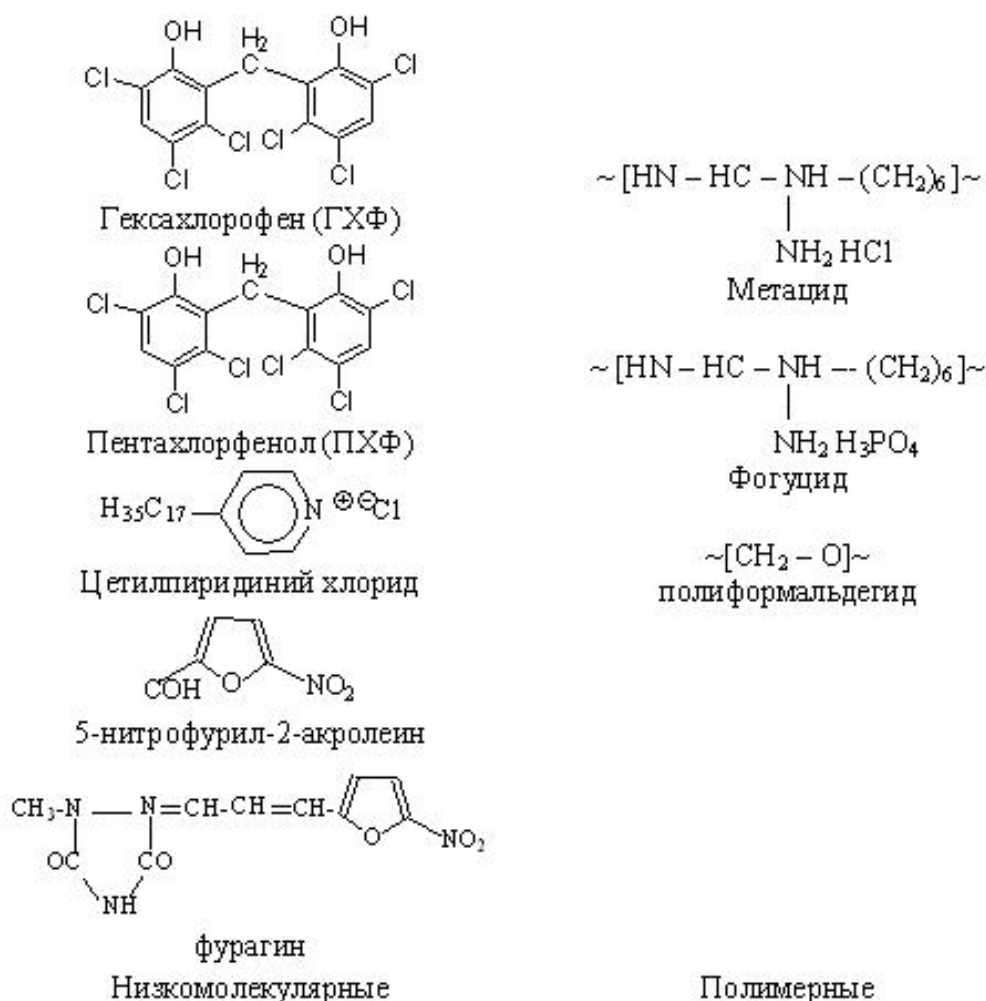


Рис. 2.1. Примеры антимикробных препаратов

Это и не менее известные антибиотики (пенициллин, оксациклин, стрептомицин, ампицилин и др.). Известно, что уже при концентрации их 1-2 % в растворах они проявляют достаточно сильное бактерицидное действие. Используются не только низкомолекулярные, но и полимерные антимикробные препараты [1], но круг их очень ограничен: метацид, фогуцид (солянокислая и фосфорнокислая соли полигексаметиленгуанидина и некоторые другие), полиформальдегид (рис. 2.1), а антимикробное действие невелико.

Механизмы действия антимикробных веществ (АВ) различны, но во всех случаях на первой стадии происходит контакт препарата с клеточной стенкой микроорганизма, далее они, адсорбируясь на стенке микробных клеток, нарушают их барьерные и транспортные функции, предотвращают адгезию на тканях организма, то есть предотвращают процесс колонизации микроорганизмов. Адсорбция антимикробных веществ на клетках микроорганизмов происходит благодаря специфическому или только электростатическому взаимодействию, так как практически все они несут заряд.

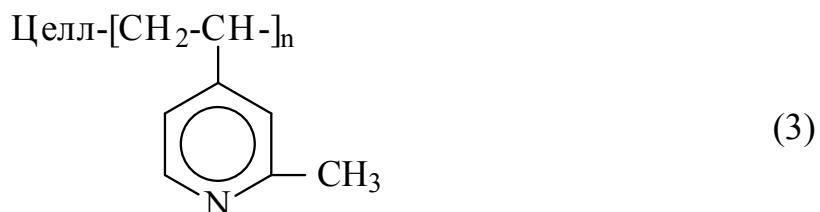
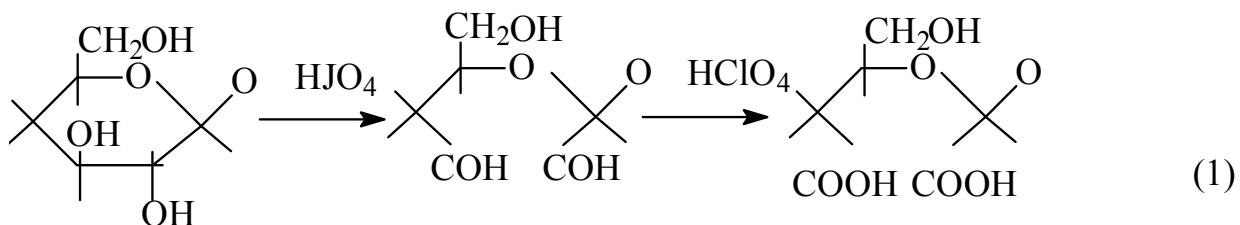
Антимикробные препараты вводят в волокнистые материалы для защиты текстильных материалов от микроорганизмов, то есть от гниения [2] и получения антимикробных материалов медицинского назначения [3,4]. Антимикробными обычно называют волокнистые материалы, способные задерживать развитие находящихся в контакте с ними микроорганизмов или вызывать их гибель. Хотя первые правильнее относить к материалам с бактериостатическими свойствами. В лабораторных условиях антимикробную активность материалов характеризуют, например, методом “инфицированного агара”, определяя при этом зону задержки роста микроорганизмов вокруг образца ткани, или капельным заражением образцов тканей, определяя степень снижения обсемененности модифицированной ткани по сравнению с исходной.

Без антимикробных материалов немыслима современная клиническая и особенно хирургическая практика. Они используются для изготовления хирургических масок, одежды хирургического персонала и больного, постельного белья, полотенец, различных перевязочных и шовных материалов, материалов для очистки, фильтрации воздуха в операционных и других помещениях, например, цехах по производству лекарственных препаратов.

## **2.1. Влияние прочности связи между волокнистым материалом и антимикробным компонентом на уровень антимикробного эффекта**

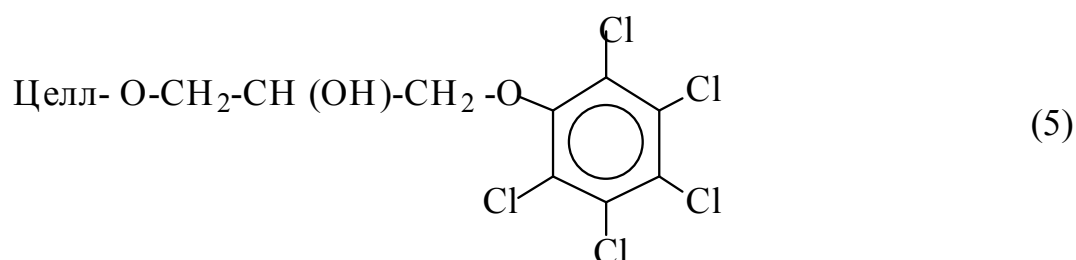
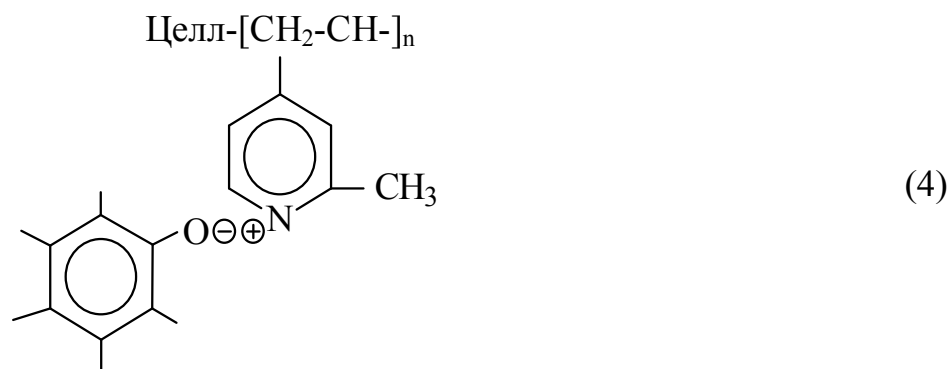
В большой степени определяющим антимикробный эффект является вопрос о типе химической связи между антимикробным веществом и волокнообразующим полимером. Он был детально изучен в большом цикле

работ, выполненных в том числе и на кафедре технологии химических волокон и наноматериалов МГУДТ с использованием в качестве исходного хлопкового и гидратцеллюлозного волокон и тканей на их основе [3-6]. С целью введения различных функциональных групп исходные волокна подвергали модифицированию по реакциям окисления (альдегидные и карбоксильные группы) (схема 1), прививочной полимеризации акриловой кислоты (карбоксильные группы) (2), и метилвинилпиридина (пиридиевые аминогруппы) (3), алкилирования ненасыщенными эпоксисоединениями (двойные связи) и др. В качестве антимикробных веществ также использовали широкий круг лекарственных соединений: ионы серебра, меди и других металлов, соединения акридинового ряда, галогенпроизводные фенола (гексахлорофен), галогены и др., присоединенные координационными, ионными, относительно лабильными ковалентными (ацетальными, сложнэфирными) и стабильными ковалентными (простые эфирные, C-N и др.) [3,5].



На основании многочисленных данных сделан вывод о том, что антимикробной активностью обладают только те производные целлюлозы, в которых антимикробное вещество присоединено ионной, лабильной ковалентной или координационной связью (4), а материалы с прочной ковалентной связью между целлюлозой и антимикробным веществом не обладают (5). Это положение в настоящее время является основным руководством при создании антимикробных волокнистых материалов. Слабые связи способны при определенных условиях постепенно разрушаться, отщепляя антимикробное вещество, которое диффундирует из волокнистого

материала и, вступая во взаимодействие с микробной клеткой, оказывает лечебное или профилактическое действие.



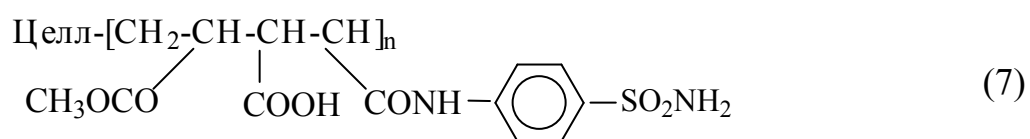
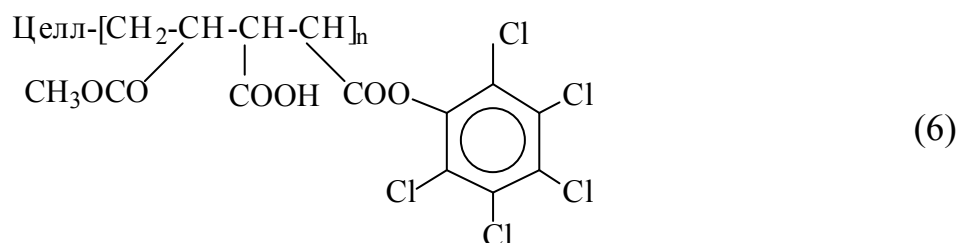
Вывод об отщеплении антимикробного вещества от волоконной матрицы как необходимом условии проявления им активности, косвенно подтвержден также результатами изучения взаимосвязи пористой структуры волокон фторлон и ПП-волокна, скорости диффузии из них антимикробного вещества и определяемой антимикробной активности, которая закономерно возрастала при повышении пористости и скорости выхода вещества из волокон. Отметим, что в указанные волокна антимикробное вещество вводили в их структуру на стадии формования [3].

Косвенным доказательством влияния устойчивости связи на антимикробную активность модифицированных волокон является также тот факт, что в случае присоединения антимикробного вещества прочной ковалентной связью целлюлозное производное, не обладающее антимикробной активностью, характеризуемой величиной зоны роста микроорганизмов, обладало высокой устойчивостью к действию плесени [5].

Наконец, прямым доказательством этого влияния являются количественные данные о скорости гидролиза различных связей и зависимости антимикробных свойств материалов от количества десорбирующихся с них антимикробных веществ. В этих опытах гидролиз проводили в условиях, моделирующих условия определения антимикробной активности в жидкой питательной среде (рН 7,2 при 37°C). Скорость гидролиза характеризовали количеством АВ, выделившегося за данный промежуток времени. Чем выше % десорбировавшегося АВ, тем скорость гидролиза выше, и следовательно, слабее АВ связано с носителем. Оказалось, что скорость



гидролиза сложноэфирной связи между антимикробным веществом галогенпроизводными фенола - пентахлорфенолом и привитым сополимером целлюлозы, содержащим карбоксильные группы (6) намного выше скорости гидролиза амидных связей между стрептоцидом и тем же целлюлозным носителем (7). Константы скорости гидролиза в этих двух случаях различаются более, чем на два порядка ( $40$  и  $0,2$ )  $10^{-4} \text{ с}^{-1}$  [3].



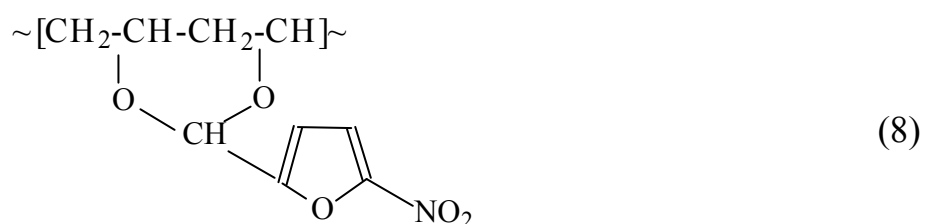
## 2.2. Антимикробная активность волокнистых материалов, модифицированных антибиотиками и антисептиками

Тип антимикробного вещества, его количество, условия модифицирования и эксплуатации влияют на активность полученных из этого материала изделий по отношению к тому или иному виду бактерий и микробов. Возможность промышленной реализации и эффективность разработанных способов в большой степени определяется также доступностью используемых реагентов, простотой технологий, отсутствием существенной деполимеризации волокнообразующего полимера и заметного снижения его физико-механических показателей.

Целлюлозные ткани с медью (2-4 %), иодом (до 10 %), цетилпиридиний хлоридом (2 %)  $[\text{C}_{17} \text{H}_{35} \text{N}^+ \text{Cl}^-]$  эффективны по отношению к стафилококку, синегнойной палочке, но плохо подавляют рост грибов *Candida*. Антибиотик неомидин подавляет рост стафилококка, но не влияет на синегнойную палочку и грибы *Candida*. При использовании тканей, содержащих гексахлорофен (~4%), происходит резкое (до 80 % по сравнению с контролем) снижение общей бактериальной обсемененности кожи больных и обсемененности ее стафилококком. Особенно резкое (в несколько раз) снижение микробной, в том числе стафилококковой обсемененности наблюдали в родильных домах и хирургических отделениях [3,4]. Снижение обсемененности наблюдали уже на первые сутки после начала применения антимикробного белья, при этом предотвращается рассеяния микроорганизмов в окружающую среду, так что и воздух в палатах содержал в 2-

3 раза меньше микробов. Очень хорошие результаты дают такие материалы в борьбе с грибковыми заболеваниями стоп [7].

Материалы на основе ПВС-волокон, содержащие антибиотики неомицин, стрептомицин, антисептик нитрофурилакролеин, последние известны под названием «летилан» (6), особенно хорошо подавляют стафилококковую инфекцию и проявляют антигрибковую активность [7]. Антимикробное вещество в летилане присоединено ковалентными, но относительно слабыми ацетальными связями, поэтому можно полагать, что действие их также основано на постепенном отщеплении активного вещества. Модифицированное антимикробное волокно летилан практически не уступает исходному ПВС-волокну виол по прочности и имеет разрывную нагрузку 25 сН/текс и удлинение около 35 %. Антимикробная активность волокна летилан сохраняется после десяти стирок в стандартных условиях, а также после комбинированного облучения УФ и ИК лучами. Из волокна летилан изготавливают шовные нити, протезы кровеносных сосудов, перевязочные средства, они рекомендованы также для изготовления чулок, носков и перчаток и др. изделий, используемых для профилактики и лечения грибковых заболеваний.



На основе предварительно модифицированного ПВС-волокна, содержащего карбоксильные и сульфогруппы, получены также изделия с ионноприсоединенными антимикробными веществами. Наиболее широким спектром действия на микрофлору обладает волокно, содержащее бриллиантовый зеленый. Ионноприсоединенные антимикробные препараты также обладают устойчивостью к влажным обработкам и стерилизации [3].

Среди других синтетических волокон, использованных для получения антимикробных нужно назвать поликапроамидное, содержащее до 10 % нитрофурилакролеина, присоединенного прочной ковалентной связью, а также полипропиленовое волокно с антисептиком фурагином [3].

Придание антимикробных свойств полиакрилонитрильным и поливинилхлоридным волокнам было осуществлено также путем введения антимикробного вещества (фурагина и нитрофурфурилакролеина) в формовочный раствор в количестве 1-5 % от полимера. Все полученные волокна проявляли антимикробную активность в отношении стафилококка и кишечной палочки [3].

Немодифицированное и не содержащее антимикробного вещества полиформальдегидное волокно обладает антимикробным действием вследствие частичного отщепления формальдегида, который является антисеп-

тиком. Дополнительные антимикробные свойства полиформальдегидным нитям придавали путем введения в расплав фурагина и стрептоцида. Полученные из расплава волокна были использованы для изготовления шовных нитей, которые не утрачивали активности после многократных обработок моющими средствами и при выдерживании в растворах “искусственного пота” [8].

Среди антимикробных тканей наиболее широко используются материалы на основе модифицированной целлюлозы, в том числе содержащей катионы серебра, меди, галогены, производные фенола, четвертичные аммониевые соединения, соединения нитрофуранового ряда, антибиотики и др. Ткани, содержащие серебро (2-6%), подавляют рост всех исследованных штаммов (стафилококк, синегнойная палочка, грибы рода *Candida* и др.). Антимикробной активностью обладают только ионы серебра, и уровень активности определяется концентрацией ионов  $Ag^+$ . Ионы серебра могут быть присоединены, например, на привитой сополимер, содержащий карбоксильные группы. Как антисептик широко используют нитрат серебра [6].

### **2.3. Использование наночастиц для получения биологически активных текстильных материалов**

В последнее десятилетие показано, что еще большей противомикробной, а также противогрибковой инфекцией обладает наноразмерное серебро – наночастицы серебра. Это послужило развитию целого ряда работ в области получения текстильных изделий с иммобилизованными наночастицами [9-11].

Применение наноразмерных компонентов и наноразмерных систем в настоящее время рассматривается как одно из наиболее перспективных инновационных направлений при создании нового поколения полимерных и текстильных материалов медицинского назначения. Интеграция наноматериалов, по размерам аналогичных большинству биологических молекул и структур, в биологические системы все в большей степени становится основой современных диагностических систем, аналитических приборов, средств доставки лекарств, физических методов терапии. При введении в структуру материала лекарственных препаратов в форме наночастиц, характеризующихся большим соотношением поверхности к объему и высокой поверхностной энергией, обеспечивается большее сродство к материалу и, как следствие, возможность увеличения продолжительности сохранения материалом его функциональной активности [12].

Одним из широко используемых при разработке биомедицинских функциональных материалов природных биологически активных веществ является куркумин. Однако возможность его использования в материалах, контактирующих с тканями человека, ограничивается растворимостью

только в органических растворителях. Это ограничение снимается при переходе от растворов к дисперсиям наночастиц.

В [13] для получения антимикробного материала хлопчатобумажную ткань обрабатывали по схеме «пропитка-сушка-термообработка» водной дисперсией наночастиц биологически активных веществ, выделенных экстракцией из растений *Curcuma longa* и *Datura metel* и иммобилизованных в бычьем альбумине, с последующей сшивкой глутаровым альдегидом. Антимикробная активность ткани, содержащей наночастицы, превышала соответствующий показатель ткани, для модификации которой был использован раствор экстрагированных веществ.

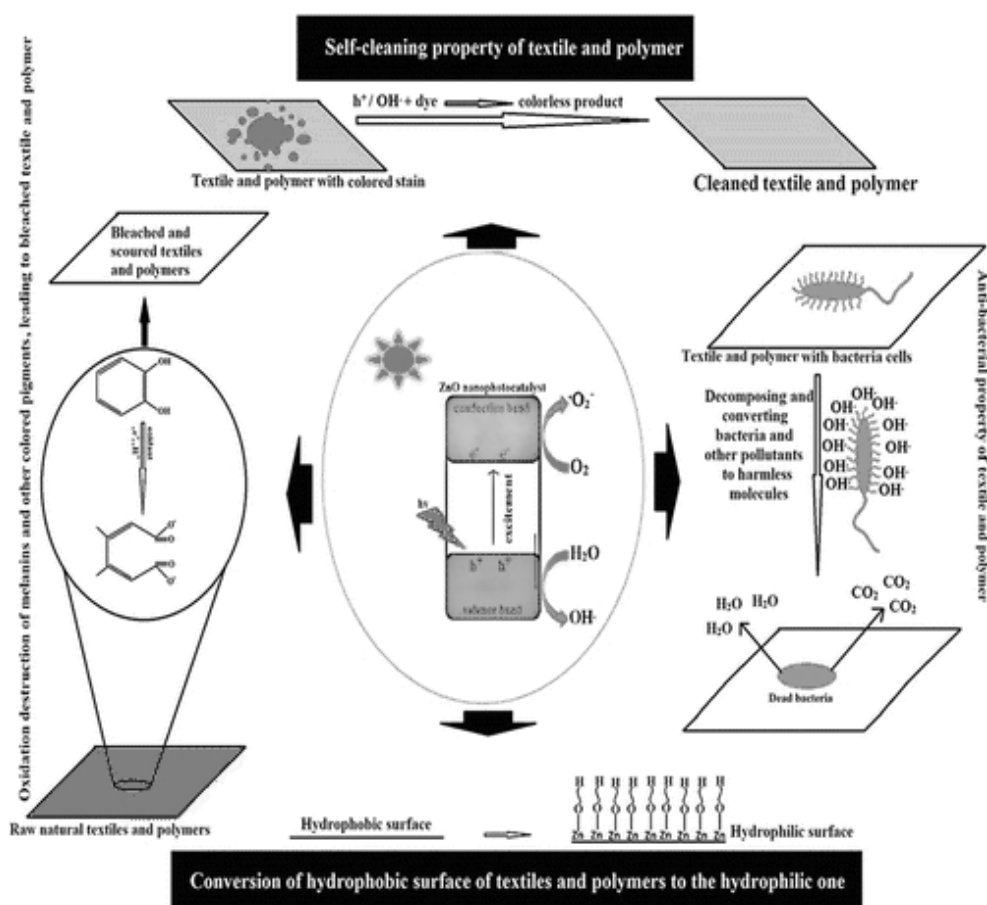
Иммобилизация наночастиц куркумина, полученных при ультразвуковой обработке исходного соединения, в желатине позволила создать композицию на водной основе. При сопоставлении антимикробных свойств по отношению к *E. coli* и *C. Staphylococcus* целлюлозных волокнистых материалов, модифицированных композицией с наночастицами и раствором исходного куркумина, была показана существенно более высокая активность материала, содержавшего наночастицы куркумина [14].

Наряду с наночастицами органических функционально активных соединений все большее внимание привлекает возможность применения наночастиц неорганической природы и в их числе - наночастиц оксида цинка, включаемых в структуру материалов, применяемых в различных отраслях. Так, использование наночастиц оксида цинка, синтез которых был осуществлен различными методами, позволило получить полимерные и текстильные материалы (ткани из хлопка, шерсти, полиэфирных и других волокон) с антимикробными и фотокаталитическими свойствами, поглощающие УФ-излучение, со способностью поверхности к самоочистке (рис.2.2) [15].

В [16] описан синтез наночастиц  $ZnO$  *in situ* на поверхности активированных хлопковых волокон, содержащей равномерно распределенные наночастицы серебра. В отсутствие такого покрытия при синтезе наночастиц  $ZnO$  образуются их агломераты, в то время как наличие наночастиц серебра предотвращает этот эффект. Присутствие на поверхности материала нанокомпозитов  $ZnO-Ag$  обеспечивает прекращение роста *S. aureus* и *E. coli*.

Новый метод модифицирования шерстяных тканей, основанный на формировании на поверхности материала наночастиц диоксида титана предложен в [17]. Образование наночастиц происходило *in situ* под действием ультразвукового излучения в результате гидролиза изопропокси- или бутоксититана в нанесенном на поверхность кислом растворе. Шерстяная ткань с поверхностным слоем из кристаллических наночастиц обладала высокой антибактериальной и фунгицидной активностью в сочетании с эффектом самоочистки и повышенной гидрофильностью. Условия обработки не приводили к снижению прочности материала и появлению цито-

токсичности, а увеличение концентрации раствора прекурсоров (изопропокси- и бутоксититана) обеспечило повышение фотокаталитической активности материала.



**Рис. 2.2. Иллюстрация комплексного эффекта от модификации текстильных и полимерных материалов наночастицами ZnO [15]**

В настоящее время сформировалось самостоятельное направление химии и физико-химии полимеров, представляющее собой всестороннее и систематическое исследование интерполиэлектrolитных реакций. Продукты интерполиэлектrolитных реакций – полиэлектrolитные комплексы являются новым классом полимерных соединений, которые уже сегодня находят практическое применение в различных областях экономики, в том числе и медицине. При исследовании влияния строения привитых сополимеров целлюлозы, содержащих кислотные группы, и водорастворимых антимикробных поликатионов (Рис.2.1) на состав и свойства получаемых полиэлектrolитных комплексов установлено, что решающее влияние на кинетику интерполимерных реакций, состав полиэлектrolитных комплексов и биологическую активность получаемых материалов оказывает строение антимикробного поликатиона и привитого к целлюлозе полианиона [18]. На основе полиэлектrolитных комплексов белка и полимерного антимик-

робного вещества были получены волокнистые материалы с комбинированным биологическим действием [19-21].

## **2.4. Промышленная реализация антимикробной отделки текстильных материалов**

В текстильной промышленности для получения антимикробных материалов достаточно широко используется нанесение антимикробного вещества в композиции на основе полимеров-загустителей с использованием метода печати, позволяющего регулировать концентрацию антимикробного вещества в материале, вводить в волокнистый материал разнообразные антимикробные вещества, в том числе малорастворимые и их комбинации, получать материалы с пролонгированным управляемым выходом антимикробного вещества во внешнюю среду [21,22]. Интересным методом получения антимикробных волокнистых материалов является крашение ткани активными красителями, содержащими присоединенное антимикробное вещество [23].

Промышленная отделка тканей с использованием антимикробных материалов в текстильной промышленности называется биоцидной отделкой.

В работе [24] отмечается, что современной гигиенической нормой подготовки текстильных материалов стала их отделка различными биоцидными средствами.

Биоцидная отделка текстильных материалов – это заключительная отделка волокнистых субстратов биоцидными веществами с целью придания текстилю антимикробных, противоаллергенных или репеллентных свойств.

В зависимости от используемых препаратов и объекта их воздействия биоцидные отделки подразделяются на следующие виды:

Антимикробная, препятствующая размножению и росту на текстильном материале колоний микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов) и таким образом позволяющая текстилю выполнять функцию «защитного барьера» для кожи человека от попадания на нее патогенных микробов извне.

Под антимикробной отделкой [24-26] понимается обработка материалов антимикробными веществами с целью обеспечения контроля числа микроорганизмов на низком уровне. Здесь нужно отметить, что антимикробный препарат должен быть нанесен только на субстрат (текстильный материал), а не на его окружение, например, на кожу человека. В зависимости от потребительской ценности субстрата отделка должна быть в большей или меньшей степени связана с ним, но должен быть явно выражен ее антибактериальный и/или противогрибковый эффект, обеспечивающий материалу необходимую защиту [27-29]. Качество отделки опре-

деляется широтой спектра действия антимикробных веществ, а также степенью фиксации.

Основной задачей противогрибковой отделки является сдерживание роста плесневых и других микроорганизмов на текстильном материале, что создает условия для профилактики грибковых заболеваний кожи человека.

Антигнилостная - защищающая текстильный материал при его контакте с землей и водой от микроорганизмов, вызывающих гниение волокна и таким образом разрушение материала.

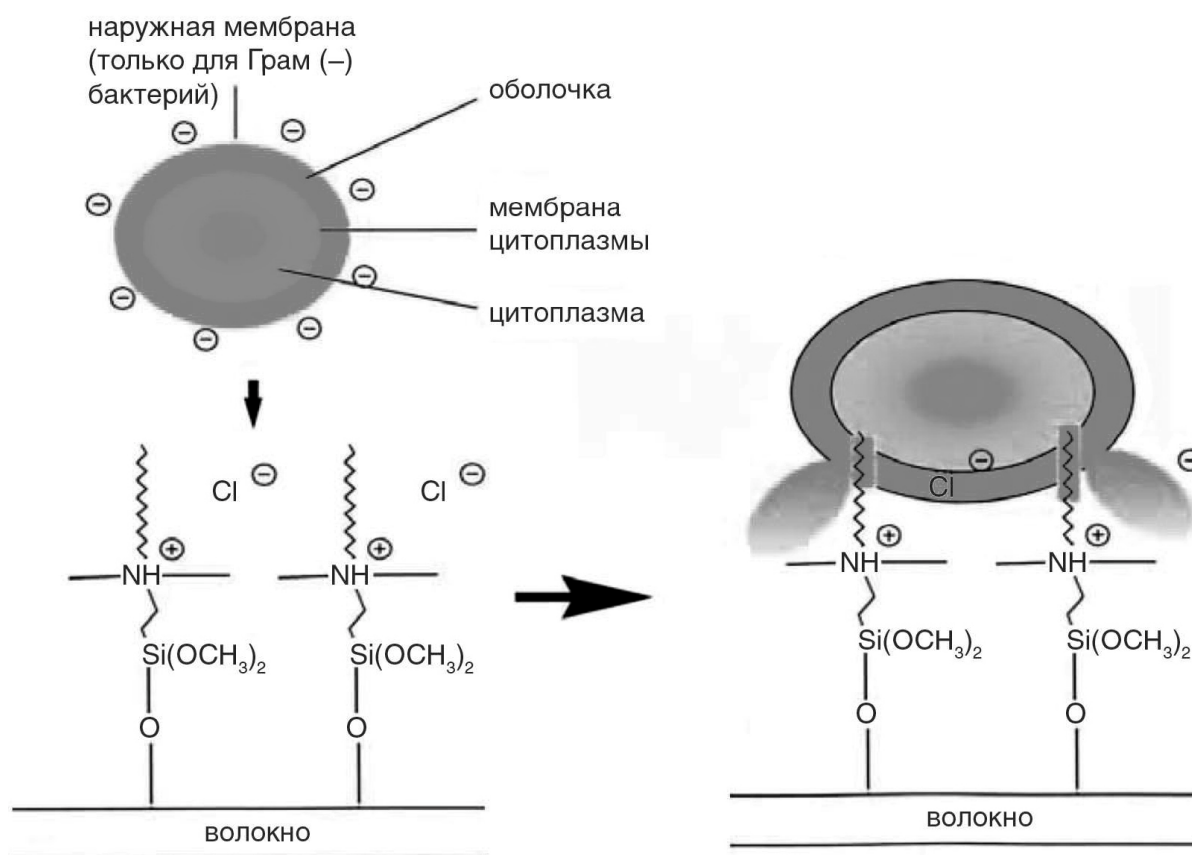
Противоаллергенная – препятствующая размножению на текстильном материале микроскопического пылевого клеща (экскременты которого являются аллергенами) и таким образом выполняющая профилактические функции.

Репеллентная - придающая текстилю свойство отталкивать кровососущих насекомых, являющихся переносчиками вирусных инфекционных заболеваний [30].

Большинство из препаратов, широко применяемых в других областях, были специально приспособлены для текстильной промышленности. В качестве активно действующих веществ используются серебро, триклозан, перметрин, пиритион цинка. Мировой лидер по разработке и выпуску биоцидных веществ для текстиля, кожи, бумаги и пластиков – швейцарская фирма «Санитайзд АГ», производит биоцидные препараты для текстиля и кожи более 70 лет [30].

В работах [30,31] описан принципиально способ антимикробной отделки препаратом Санитайзд Т99-19, обеспечивающим новый механизм антимикробного действия модифицированной ткани. Препарат, образуя ковалентную связь с волокном текстильного материала, закрепляется на нем таким образом, что его молекулы, вертикально ориентируясь на поверхности субстрата, образуют упорядоченную наноструктуру в форме «колючей проволоки». Вследствие этого молекулы препарата входят в контакт только с микроорганизмами (сопоставимых наноразмеров), находящимися в непосредственной близости к текстильному материалу (рис.2.3). При этом ткань (или трикотаж) становится защитным барьером на пути проникновения микробов к телу человека, а молекулы препарата непосредственным образом не соприкасаются с кожей. Это означает, что текстильный материал с антимикробной отделкой является биоцидным профилактическим барьером на пути транзитной патогенной микрофлоры к поверхности кожи, в то же время, не затрагивая собственную резидентную микрофлору кожи.

Качество отделки определяется не только эффективностью действия отделочного препарата и степенью его фиксации на текстильном материале, но и безопасностью для человека и окружающей среды [26, 32]. Стандарт «Эко-Текс 100» устанавливает предельно допустимые концентрации и методы определения вредных веществ в текстильной продукции.



**Рис. 2.3. Механизм взаимодействия антимикробного препарата Санитайсед Т99-19, иммобилизованного на текстильном материале, с микроорганизмом [31]**

Для текстильных материалов наиболее проблемным и часто проверяемым показателем, подлежащим тщательному контролю, является содержание формальдегида на ткани или трикотаже. Предельно допустимые нормы содержания формальдегида на текстильном материале регламентируются как национальными, так и международными стандартами, а также нормами отдельных крупных фирм (Marks & Spenser, IKEA). Но наиболее широко используется международный стандарт «Эко-Текс 100». В работе [26] отмечается, что до 1996 года в России по советским ГОСТам предусматривалось нулевое содержание формальдегида на текстильных материалах (для детского ассортимента). Сейчас в России действует новый стандарт. Но ни один из биоцидных продуктов, применяющийся для отделки текстильных материалов, не должен содержать формальдегид. Биоцидные продукты при правильном их использовании в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя в большинстве случаев отвечают всем требованиям «Эко-Текс 100». Исключение составляют препараты на основе триклозана, для которых с 1 июля 2010 г. был снят знак «Эко-Текс 100».

В настоящее время в России можно встретить изделия с антимикробной отделкой уже не только на отраслевых выставках и Ярмарках и вы-



ставках, но и в магазинах. Уже нашли своего покупателя противогрибковые носки производства Смоленской чулочной фабрики и фирмы «Спецтекстиль» (г. Шуя). По накопленным данным, эффективность профилактики микозов (грибковых заболеваний) стоп у людей, работающих с высокими физическими нагрузками, при использовании противогрибковых стелек и носков этих производителей, заключается в снижении заболеваемости через год наблюдения в 3 раза, через два года наблюдения в 3,8 раза [26].

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф.* Антимикробные полимеры. – СПб.: Гиппократ, 1993. – 261 с.
2. *Разуваев А.В.* . Заключительная отделка текстильных материалов биоцидными препаратами // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. – 2010. – Т. 53. – Вып. 8. – С. 3-7.
3. *Вирник А.Д.* Антимикробные целлюлозные волокнистые материалы // Итоги науки и техники. Сер.Химия и технология ВМС. – 1986. – № 21. – С. 35-95.
4. *Вирник А.Д.* Биологически активные волокнистые материалы. Конспект лекций. – М.: МГТА, 1992.
5. *Вихорева Г.А., Скокова И.Ф., Кильдеева Н.Р.* Волокнистые и плечные материалы для медицины и биотехнологии. – М.: МГТУ им.А.Н.Косыгина, 2005. – 56 с.
6. *Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Гальбрайт Л.С.* Получение биологически активных волокнистых материалов с заданными свойствами // Хим. волокна. – 2000. – № 6. – С. 21-24.
7. *Федоров С.М., Суколин Г.И., Степанова Ж.В., Селицкий Г.Д., Алчангян Л.В., Ириков В.А.* Особенности профилактики дерматомикозов // Вестник дерматологии и венерологии. – 1999. – №3. –С. 18-19.
8. *Рыбакова Л. Е., Власенко В. И., Вишневский В. Е., Егоров Б. А., Блиничева И. Б.* Антимикробные свойства полиформальдегидных нитей // Химическая промышленность Украины. – 1976. – № 6. – С. 19-22.
9. *Хаханина Т. И., Осипов Б. П., Суханов В. И., Сухарев С. А.* Тенденции развития нанотехнологии в современной текстильной индустрии // Тезисы доклада. – 2004. – С. 67-74.
10. *Васильева Н. Г.* Нанотехнологии в текстильной промышленности // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №. 8. – С. 358-360.
11. *Кобраков К.И., Родионов В.И., Ручкина А.Г., Станкевич Г.С., Золина Л.И., Серенко О.А., Дмитриева М.Б.* Получение наномодифицированных биоцидных шерстяных материалов и исследование устойчивости их фунгицидных свойств к мокрым обработкам // Бутлеровские сообщения. – 2014. – Т. 37. – № 2. – С. 53-59.

12. Кривевский Г.Е. Нано-, био-, химические технологии и производство нового поколения волокон, текстиля и одежды. – М.: 2011. – 528 с.
13. R.Rajendran, R.Radhai, N.Maithili, C.Balakumar . Production of herbal-based nanoparticles for medical textiles // Int. J. Nanosci. – 2011. – V.10. – №1-2. – P. 209-212
14. Raghavendra G.M., Javaramudu T., Varaprasad K., Ramesh S., Raju K.M. Microbial resistant nanocurcumin-gelatin-cellulose fibers for advanced medical applications // RsC Advances. – 2014. – №4. – P. 3493-3501.
15. Montazer M., Amiri M.M. ZnO nano reactor on textiles and polymers: ex situ and in situ synthesis, application, and characterization // J. Phys. Chem. – 2014. – №118(6). – P. 1453-1470.
16. Barani H. Surface activation of cotton fiber by seeding silver nanoparticles and *in situ* synthesizing ZnO nanoparticles // New J. Chem. – 2014. – V.38. – P. 4365-4370.
17. Behzadnia A., Montazer M., Rashidi A., Rad M.M. Sonosynthesis of nano TiO<sub>2</sub> on wool using isopropoxide or butoxide in acidic media producing multifunctional fabric // Ultrason Sonochem. – 2014. – V. 21 (5). – P. 1815-1826.
18. Virnik A.D., Skokova I.F., Ivanova M.V., Khomyakov K.P., Visotskaya E.P., Kostanova E.A., Rosenfeld M.A Immobilization of enzymes on grafted cellulose copolymers containing ionizable groups // Cellulose Chemistry and Technology. – 1993. – V.27. – P. 477-488.
19. Вирник А.Д., Скокова И.Ф. Разработка волокнистых материалов с комбинированным биологическим действием на основе полиэлектролитных комплексов // Химические волокна. – 1995. – №5. – С. 10-21.
20. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Мартынова С.Б. Получение волокнистых материалов, содержащих биологически активный комплекс протеаза-полиэтиленмин, и их свойства // Химические волокна. – 2002. – №2. – С. 44-46.
21. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Бочкарев О.Н. Получение и свойства волокнистых материалов, содержащих полимерное антимикробное вещество фогуцид // Вестник МГТУ. – 2002. – С. 93-96.
22. Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Савилова Л.Б. Текстиль и медицина. Перевязочные материалы с пролонгированным лечебным действием // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – № 1. – С. 133-141.
23. Хазанов Г.И. Исследование антимикробной активности текстильных материалов, окрашенных антрахиноновыми красителями // Текст. промышленность. – 2004. – №5. – С. 76-78.
24. Разуваев А.В. Специальные, совмещенные с антимикробной, виды заключительных отделок для элитного ассортимента тканей: уход «в отрыв» от азиатской конкуренции [электронный ресурс] // Текстильная

промышленность, 2010. – URL:

<http://korchemcolor.ru/images/Publication/05102010-43-44.pdf>.

25. *Боссард М.* Гигиеническая защита текстильных материалов как аргумент для продажи изделий. Пример высокого маркетинга // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – №2. – С. 62-65.

26. *Разуваев А.В.* Биоцидная отделка текстильных материалов с точки зрения ее экологической безопасности: международные требования и нормативы // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2011. – Т. LV. – № 3. – С. 117-120.

27. *Пехташева Е.Л.* Биоповреждения непродовольственных товаров. – М.: Издательско-торговая корпорация "Дашков и К", 2013. – 332 с.

28. *Разуваев А.В.* Природные антимикробные свойства натуральных волокон и вопрос их дополнительной биоцидной отделки [электронный ресурс]//Текстильная промышленность, 2011. – URL: <http://korchemcolor.ru/images/Publication/05092011.pdf>.

29. *Разуваев А.В.* Антимикробная обработка текстильных изделий в процессе их стирки [электронный ресурс] // Текстильная промышленность, 2011. – URL: <http://korchemcolor.ru/images/Publication/02042011-89-39.pdf>.

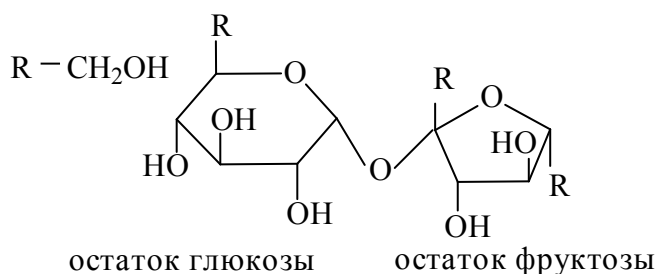
30. *Разуваев А.В.* . Репеллентный препарат санитайзед АМ 23-24 от кровососущих насекомых для отделки текстильных материалов и его поставщик ЗАО «Кор Хим Колор» [Электронный ресурс] // Текстильная промышленность, 2010. – URL: <http://korchemcolor.ru/images/Publication/05102011-23-24.pdf>.

31. *Разуваев А.В.* . Механизм антимикробного действия немигрирующего биоцидного препарата, ковалентно связанного с текстильным материалом // Нанотехнологии и охрана здоровья. – 2011. – Т. III. – №1(6). – С. 50-53.

32. *Дмитриева М.Б., Кузнецов Д.Н., Кобраков К.И., Сафонов В.В.* Эффективный экспресс метод тестирования препаратов для защиты текстильных материалов от биоповреждений // Бутлеровские сообщения. – 2013. – №34(3). – С. 108-115.

### 3. ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА ФЕРМЕНТСОДЕРЖАЩИХ ВОЛОКНИСТЫХ И ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Ферментами называют наиболее крупный класс белков, выполняющих роль катализаторов реакций и процессов, протекающих в живых организмах и вне их. Ферменты как катализаторы характеризуются высокой эффективностью ( $K_{\text{кат}} > 1000 \text{ с}^{-1}$ ). В основе эффективности этих биокатализаторов лежит их специфичность, т.е. способность распознавать субстрат и осуществлять его определенные химические превращения. Примерами ферментативных реакций в организме являются расщепление дисахарида сахарозы на глюкозу и фруктозу под действием фермента инвертазы и гидролиз белков некротических (отмерших) тканей под действием протеолитических ферментов, например, трипсина, террилитина и др.



Исключительно высокая каталитическая активность, а также совершенствование методов выделения обусловили целесообразность расширения практического использования биокатализаторов для создания биотехнологических процессов и лечения целого ряда заболеваний. Однако некоторые свойства нативных ферментов (низкая стабильность, приводящая к быстрой потере активности – инактивации, растворимость в водных средах и сложность вследствие этого отделения их от реакционной среды) снижают технико-экономические показатели процессов и ограничивают их применение в биотехнологии и медицинской практике [1,2].

Иммобилизация<sup>1</sup> ферментов в волокнистых полимерных материалах позволяет осуществить переход к нерастворимым формам ферментов, которые сохраняют свойства нативного предшественника, но отличаются от него большей стабильностью. Вместе с тем нерастворимые производные ферментов легче отделять от жидких продуктов реакции и, следовательно можно многократного использовать в биокаталитических процессах [3].

Целесообразность использования именно волокнистых носителей для иммобилизации ферментов обусловлена высокой удельной поверхностью волокон и меньшим гидравлическим сопротивлением волокнистой массы по сравнению с гелями, что способствует интенсивному массообме-

<sup>1</sup> Термин “иммобилизация” означает лишение подвижности (растворимости) фермента путем присоединения или включения в структуру матрицы (носителя).

ну при гетерогенном катализе [4,5]. Биокатализаторы в виде пленочных покрытий, нитей и других волокнистых изделий обозначают термином ВБК – волокнистые биокатализаторы[6]. ВБК могут быть использованы и в медицинской практике как покрытия на раны в форме биологически активных перевязочных средств, шовных нитей и т.д. [7].

Как и в случае получения антимикробных волокон, для иммобилизации ферментов могут быть использованы практически любые типы волокон. Для перевязочных средств чаще используют гидрофильные вязкие и ПВС-волокна, а также нетканые материалы, для шовных нитей – наиболее прочные и инертные синтетические волокна (фторлон, капрон, полиуретановые) или рассасывающиеся в организме полигликолидные [8].

Ферменты могут быть присоединены различными связями к готовому волокну или волокнистому материалу и другим текстильным изделиям медицинского назначения или включены в структуру волокна при его формировании.

### **3.1. Иммобилизации ферментов путем присоединения к волокнистым носителям**

В макромолекулах нативных ферментов, как и других белков, содержится значительное количество основных аминогрупп, которые чаще всего и используются для присоединения ферментов ионными или ковалентными связями к полимерному носителю. Кроме того, отдельные аминокислотные остатки содержат различного типа функциональные группы. Это группы кислотного типа: сульфогруппы, сульфгидрильные и карбоксильные группы, и группы основного характера: аминогруппы как первичные и вторичные, так и входящие в состав ароматических аминов. При изменении pH среды выше или ниже изоэлектрической точки макромолекула фермента, как и любого полиамфолита, будет заряжаться положительно или отрицательно. Таким образом, ионными связями ферменты могут быть присоединены к любому волокну с ионогенными группами. Однако при изменении pH или увеличении ионной силы раствора фермент будет десорбироваться в реакционную среду, что неприемлемо при осуществлении биотехнологических процессов. Поэтому иммобилизацию ферментов, предназначенных для биотехнологических производств, как правило, осуществляют путем ковалентного присоединения [2].

Ковалентно-присоединенный фермент, более стабилен, чем присоединенный ионными связями и, тем более, чем нативный. Однако этот способ иммобилизации, в большей степени изменяющий химическую структуру фермента и конформацию его макромолекул, может в большей степени влиять и на реакционную способность, то есть каталитическую активность фермента. Кроме того с технологической точки зрения этот спо-

соб иммобилизации более сложен, так как требует в целом ряде случаев предварительного модифицирования полимерной матрицы.

Нужно отметить, что в отличие от антимикробных веществ, ковалентно-присоединенные ферменты проявляют активность и в случае присоединения прочными ковалентными связями, следовательно, механизм их действия не предусматривает обязательного отщепления от носителя, на чем и основаны гетерогенные биокаталитические процессы[2].

Ферменты являются сложными биополимерами, активность которых определяется оптимальной конформацией макромолекулы, обеспечивающей функционирование его активного центра. Для успешного осуществления иммобилизации необходимо учитывать характер зависимостей активности конкретного ферментного препарата от внешних условий.

Важнейшими характеристиками ферментных препаратов является pH- и температурная зависимости ферментативной активности, которые имеют экстремальный характер (рис. 3.1).

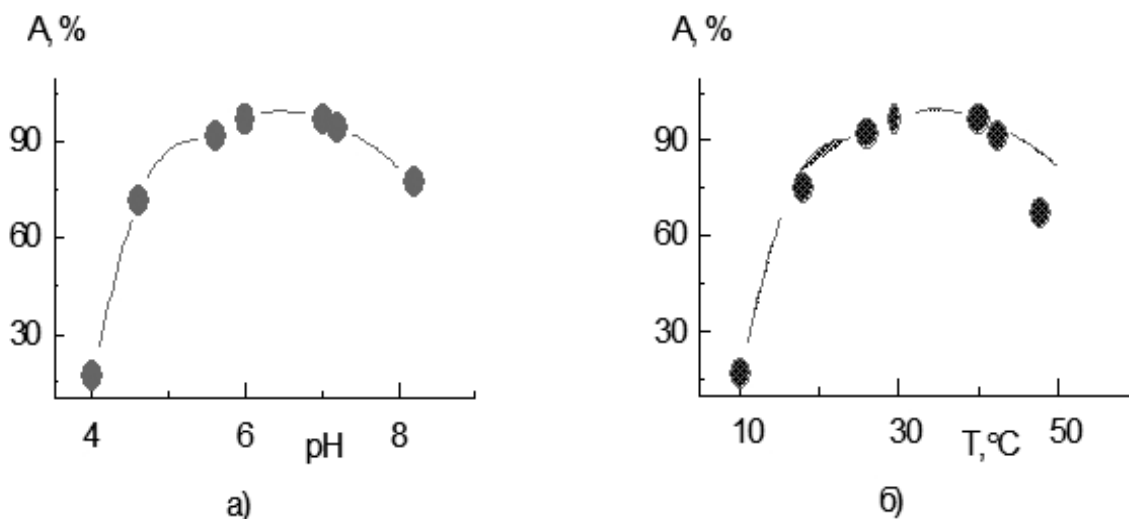


Рис. 3.1. Зависимость активности протеолитического фермента трипсина от pH (а) и температуры (б) [9]

Поэтому кроме величины pH, отвечающей изоэлектрическому состоянию фермента (изоэлектрическая точка - pI), ферменты характеризуются величиной pH-оптимума действия, при которой данный фермент проявляет наибольшую каталитическую активность. pH- и температурный оптимумы действия нативного и иммобилизованного фермента, которые определяют экспериментальным путем, как правило, не совпадают [1].

Знание pH и температурного оптимумов действия фермента позволяет наиболее эффективно проводить биотехнологические процессы. Исследования влияния различных факторов (pH, концентрации фермента, продолжительности и температуры обработки) показали, что наиболее существенное влияние на относительную активность иммобилизованного фермента оказывает pH среды, и наибольшее сохранение протеолитической

активности ферментов достигается при проведении иммобилизации при рН, близком к рН - оптимуму действия нативного фермента [1-5]. Поскольку ферменты водорастворимы, то присоединение их к волокнам и пленкам осуществляют, используя буферные растворы с рН, соответствующим их оптимуму действия. Очевидно, в этом случае фермент на волокне фиксируется в конформации, наиболее удобной для взаимодействия с субстратом.

Для определения активности фермента могут быть использованы разные методы, в том числе *in vitro*, то есть при проведении испытания вне живого организма, на какой-либо модели, и *in vivo*, то есть при испытании непосредственно в организме, например, опытного животного. За единицу активности фермента обычно принимают такое его количество, которое в стандартных условиях (температура, рН, концентрация, продолжительность) приводит к разложению (превращению) определенного количества субстрата (реагента) или образованию определенного количества продукта реакции в единицу времени. Известный способ определения протеолитической активности ферментов, то есть способности гидролизовать белки, основан на измерении скорости гидролиза белка казеина. В стандартных условиях (37 °С, рН 7.6, 1 % раствор казеина, 10 мин) проводят обработку казеина (субстрата) раствором фермента, затем осаждают избыток негидролизованного казеина и удаляют осадок фильтрацией, а в растворе гидролизата спектрофотометрически с использованием калибровочной кривой определяют концентрацию продуктов ферментативной реакции - аминокислот. Активность иммобилизованных протеолитических ферментов определяют аналогичным способом, но ферментный препарат используют не в виде раствора, а в виде навески волокна или пленки. Относительную активность иммобилизованного фермента рассчитывают в процентах от активности нативного фермента.

Как уже было отмечено, при ионном присоединении фермента к готовому волокну, когда фермент присоединяется, главным образом на поверхности волокна и не очень прочными связями, активность иммобилизованного фермента близка к активности нативного фермента. Она может достигать 90-100%. Интересно отметить, что частичная потеря активности ионноприсоединенных ферментов является обратимой. Другими словами, даже если ионноприсоединенный фермент на волокне не проявил 100%-ную активность, то после десорбции с волокна он в целом ряде случаев полностью сохраняет активность. Таким образом было установлено, что причиной снижения активности иммобилизованного фермента по сравнению с нативным является его меньшая доступность для субстрата, а не денатурация. В связи с этим при проведении гетерогенного биокатализа важна не только прочность связи между ферментом и матрицей, но и доступность фермента, место локализации его в волокне, пористость и степень набухания волокна в рабочей среде.

В работе определенного количества при присоединении трипсина и папаина к ПВС-волокнам ионными связями рН оптимум действия ферментов изменялся незначительно [7,8]. Фиксация ковалентными связями приводит к существенному сдвигу (на 1-2 единицы) и расширению области стабильности по шкале рН. Ковалентное присоединение в большей степени увеличивает стабильность ферментов и к повышенным температурам. Похожие закономерности характерны и для случаев, когда в качестве волокнистого носителя используется и целлюлозные и поликапроамидные волокна [3,4,10-12].

В целом, процессы присоединения ферментов к волокнам и свойства получаемых волокон-биокатализаторов определяются типом фермента и строением волокнообразующего полимера (количество, пространственное расположение и тип групп и связей с ферментом) и условиями иммобилизации. В табл. 3.1 приведены некоторые волокна и иммобилизованные в них ферменты.

Таблица 3.1

Примеры ВБК, полученных путем иммобилизации ферментов [8]

Волокно, способ модификации	Функциональные группы	Фермент	Тип связи	Содержание, %	Активность, %
Альгинатное обработка ФА	Карбоксильные		ионная		
ПВС этерификация МА	- “ -	трипсин папаин липаза амилаза	- “ -	1,3 7,7 6,6 2,7	10 41 - -
ПВС этерификация малеиновой кислотой и прививка ПАК	- “ -	трипсин папаин гиалуронидаза	- “ -	0,7 0,6 1,7	98 - -
ПВС ацеталирование малеиновым диальдегидом и прививка ПАК	- “ -	трипсин папаин рибонуклеаза гиалуронидаза	- “ -	5,8 8,2 8,8 9,2	51 73 - -
ПВС ацеталирование ГА и прививка ПАК	- “ -	папаин	- “ -	6,2	70
ПВС	Бромалкиль-	трипсин	ковалентн	3,0	26



обработка бромалем	ные				
ПВС этерификация малеиновым диальдегидом	Альдегидные	фенолоксидаз пероксидаза	- “ -	0,01 0,01	29 10
ПВС этерификация ГА	- “ -	папаин фенолоксидаз	- “ -	3 0,01	23 33
Гидратцеллюлозное обработка красителем	Карбоксильные	папаин	ионная	4	85
Целлюлоза обработка бромалем	Бромалкильные	трипсин протосубтилин гиалуронидаза	ковалентн	0,6 1,4 2,6	61 46 -
Коллагеновое обработка бромалем	Бромалкильные	трипсин папаин	- “ -	1,1 9	100 100

### 3.2. Закономерности иммобилизации ферментов в структуре волокон и пленок путем формирования из белоксодержащих дисперсий

Метод иммобилизации ферментов в структуре волокон и пленок в процессе их формирования впервые был реализован итальянской фирмой [13, 14] и развит в работах, выполненных в разные годы на кафедре технологии химических волокон и наноматериалов и кафедре физической и коллоидной химии Московского государственного текстильного университета (ныне МГУДТ) и Всесоюзном научно-исследовательском институте полимерных волокон. Метод основан на введении в формовочный раствор раствора ферментного препарата и последующем формировании полимерного материала [3].

При иммобилизации ферментов включением их в структуру волокна на стадии формирования ключевыми являются следующие моменты:

- возможность инактивации ферментов, которая должна быть минимальной и именно поэтому нельзя получать волокнистые биокатализаторы из расплавов полимеров или из растворов с высокими или очень низкими значениями pH;
- в случае применения ВБК в биотехнологических процессах десорбция фермента должна быть полностью исключена, поэтому иногда используют дополнительное модифицирование фермента;
- при иммобилизации ферментов в структуре волокон и пленок, а не на их поверхности особенно важной становится проблема его доступности

для молекул субстрата, что достигается, главным образом, формированием пористой структуры волокнистого или пленочного носителя.

В случае использования водорастворимого полимера формование производят из совместного раствора, полученного смешением растворов полимера и белка. Другой способ получения волокнистых и пленочных биокатализаторов – это формование из эмульсий водных растворов фермента в растворе волокнообразующего полимера в несмешивающемся с водой органическом растворителе. В этом случае вместе с раствором фермента могут быть введены реагенты, с помощью которых осуществляют модификацию ферментов (сшивку, гелеобразование, химическое присоединение) непосредственно в формовочной эмульсии с целью придания заданных свойств [3].

Водорастворимые ферменты не растворяются в таких растворителях как метиленхлорид или хлороформ, поэтому формовочная композиция в этом случае представляет собой эмульсию раствора фермента или его суспензию в растворе полимера. Раствор фермента является дисперсной фазой, а раствор полимера - дисперсионной средой. Оптимизация состава и свойств формовочных композиций (реологических, размера дисперсных частиц, их формы и др.) - очень важная задача, от которой зависят структура и все свойства ВБК[15-17] .

При иммобилизации белков, в частности ферментов, необходимы наиболее щадящие условия проведения процесса, позволяющие исключить экстремальные значения pH, нагревание и использование денатурирующих фермент реагентов. В процессе диспергирования резко увеличивается поверхность раздела фаз, и адсорбция белка может привести к денатурации и тем самым существенно снизить эффективность иммобилизации. В работе [18] была оценена адсорбция белка на межфазовой поверхности «раствор ТАЦ в метиленхлориде – водный раствор белка», которая составила 0,85 до 1,0 мг/м<sup>2</sup>. На основе ТАЦ, вязкость растворов в метиленхлориде которого выражено зависит от концентрации, были получены эмульсии, содержащие водные растворы трипсина, с различной степенью дисперсности. Выбранная нами величина адсорбции 0.9 мг/м<sup>2</sup> позволила, зная площадь поверхности раздела фаз, рассчитать массу ТР, адсорбированного на межфазовой поверхности, трипсина в объеме и долю трипсина, адсорбированного на межфазной поверхности, от общего количества ТР в растворе ( $k$ -коэффициент распределения белка в объеме и на межфазовой поверхности). Полученные данные приведены на рис.3.2 и в табл. 3.2.

Показано, что, с увеличением концентрации ТАЦ и, соответственно, площади поверхности раздела фаз, растет масса ТР, адсорбированного на межфазовой поверхности, и при концентрации ТАЦ 9% она достигает 45% (рис.3.2).

Таблица 3.2

Влияние концентрации водного раствора ТР и величины межфазовой поверхности на активность фермента в эмульсии [18]

№ п/п	Концентрация раствора ТАЦ, %	Площадь поверхности раздела фаз S, м <sup>2</sup> /мл	Концентрация раствора ТР, мг/мл	Масса ТР, адсорбированного на межфазовой поверхности m <sub>s</sub> , мг	Масса ТР в объеме водной фазы эмульсии m <sub>v</sub> , мг	k=m <sub>s</sub> /m <sub>тр</sub> , %	Активность ТР после эмульгирования, % от активности нативного фермента
1	3	0,41	4,0	0,36	3,64	9,0	100,0
2	5	1,05	4,0	0,90	3,10	22,5	86,0
3	9	2,02	4,0	1,80	2,20	45,0	67,0
4	3	0,41	0,4	0,36	0,04	90,0	3,8
5	5	1,05	0,4	0,90	-	100,0	1,8
6	9	2,02	0,4	1,80	-	100,0	0

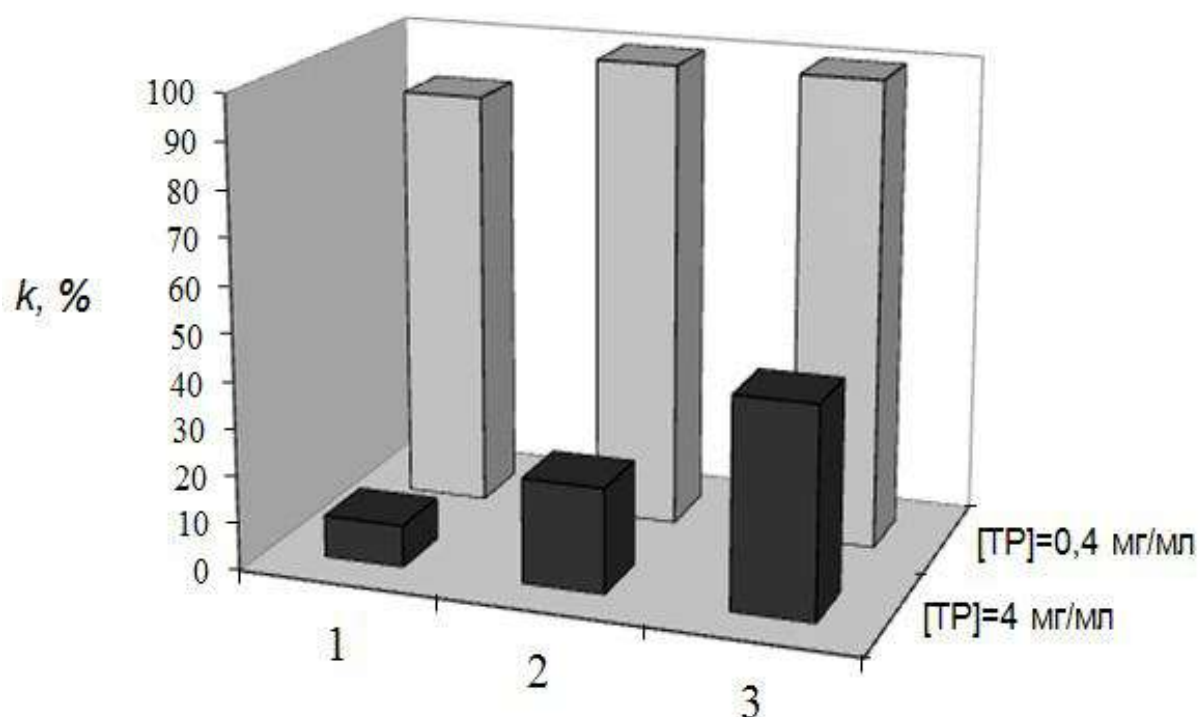
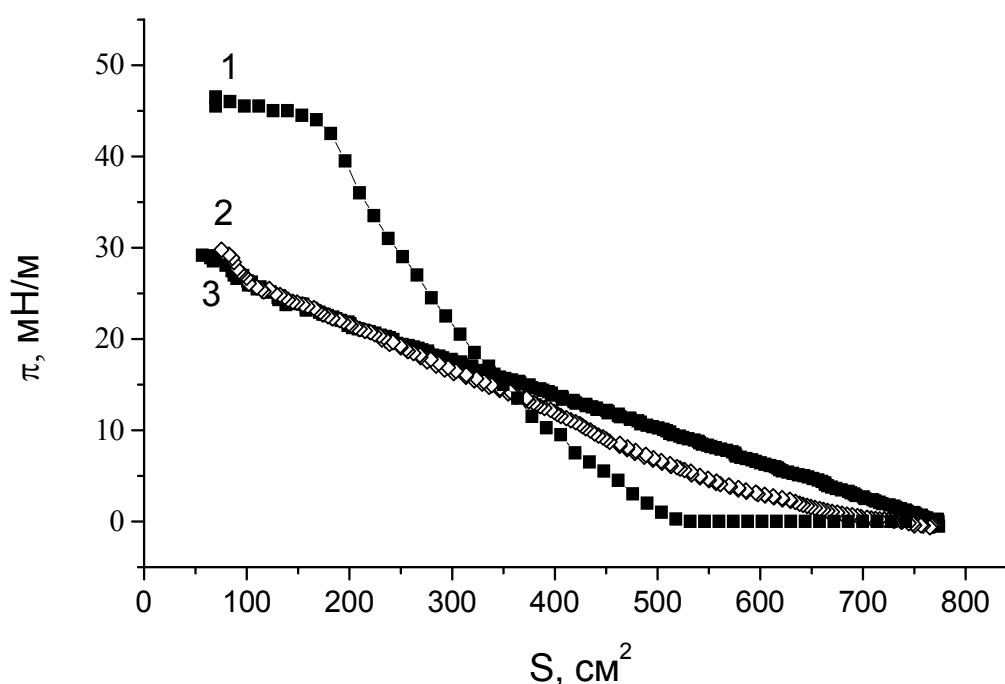


Рис. 3.2. Зависимость относительного содержания трипсина на межфазовой поверхности ( $k$ ) от ее площади ( $S$ ). 1.  $S=0,41$  м<sup>2</sup>/мл; 2.  $S=1,05$  м<sup>2</sup>/мл; 3.  $S=2,02$  м<sup>2</sup>/мл [18]

Изменение количества адсорбированного фермента должно существенно влиять на его активность. Активность ТР определяли в водной фазе эмульсии после 30 мин. эмульгирования и расслоения эмульсии в результате разбавления ее метиленхлоридом. Как видно из данных таблицы 1,

увеличение поверхности раздела фаз, а, следовательно, и адсорбции, приводит к резкому снижению активности фермента. При использовании ТР с концентрацией 0,4 мг/мл активность фермента снижается практически до 0, так как весь находящийся в растворе фермент переходит на межфазовую поверхность и вследствие изменения конформации полностью инактивируется (п.6, табл. 3.2).

С целью снижения инактивации фермента в эмульсию вводили раствор водорастворимого полиэлектролита, способность к адсорбции на межфазовой поверхности у которого выше, чем у белка [19,20]. В качестве такого полиэлектролита было использовано алкилированное производное хитозана АлкХТЗ. Адсорбционная способность белков альбумона и трипсина, а также АлкХТЗ была изучена с помощью монослойной техники. Изотермы поверхностного давления, приведенные на рис.3.3, показывают, что АлкХТЗ образует более прочные по сравнению с белками адсорбционные слои на поверхности раздела фаз: коллапс слоя происходит при наибольшем поверхностном давлении (кривая 1, рис.3.3). Определение активности трипсина в водной фазе эмульсии (0,4 мг/мл) на основе 9% раствора ТАЦ в метиленхлориде показало, что в присутствии алкилированного хитозана активность фермента сохраняется на 24%, в то время как в эмульсиях, не содержащих АлкХТЗ, трипсин полностью инактивируется.



**Рис. 3.3.** Изотермы поверхностного давления растворов АлкХТЗ, 0,04 мг/мл (1), АБ 0,01 мг/мл (2) и ТР 0,01 мг/мл (3) на межфазовой поверхности вода – воздух [19]

В настоящее время в литературе описаны способы иммобилизации более 40 ферментов в структуре самых различных волокнообразующих

полимеров: триацетата целлюлозы, этилцеллюлозы, поливинилхлорида, полиакрилонитрила, полибутадиена, полиглутамата, поликарбоната, фторопласта и др. Но во многих работах предпочтение отдается триацетату целлюлозы (ТАЦ). Его достоинства: доступность полимера и простота формования волокна из растворов в метиленхлориде, а недостаток - гидрофобность, низкое набухание в водных средах, затрудняющее диффузию [3-6, 21].

В работах [3,22,23] волокна и пленки из ацетатов целлюлозы, содержащие протеолитические ферменты трипсин и  $\alpha$ -химотрипсин, а также гидролазы  $\beta$ - галактозидазу, уреазу и другие, были получены формованием

- из эмульсии водного раствора фермента в растворе триацетата целлюлозы в метиленхлориде, а также

- из суспензии фермента в ацетоновом растворе вторичного ацетата целлюлозы.

При получении формовочных эмульсий важным технологическим показателем является их стабильность [24,25]. Способность обратных эмульсий к сохранению агрегативной устойчивости определяется величиной межфазного поверхностного натяжения и соотношением вязкости дисперсной фазы и дисперсионной среды. При одинаковой концентрации белка, макромолекулы которого, как известно, обладают поверхностной активностью, и использовании одного и того же растворителя дисперсность и стабильность эмульсии определяется вязкостью дисперсионной среды. На основании изучения стабильности трипсиносодержащих эмульсий на основе растворов ТАЦ в хлороформе и метиленхлориде разной концентрации, был определен нижний предел вязкости дисперсионной среды, обеспечивающий эмульсии стабильность во времени (табл. 3.3). Он составил 50 мПа·с.

В табл. 3.3 приведены результаты изучения влияния концентрации, вязкости растворов ТАЦ в хлороформе и метиленхлориде, величины щелевого зазора фильеры для формования плёнок на толщину плёнок, получаемых из белоксодержащих эмульсий. Как видно из полученных данных, толщина плёнок определяется, в основном, размером зазора в щелевой фильере и в меньшей степени концентрацией и вязкостью раствора.

Метод включения ферментов в структуру волокон или пленок в процессе их формования является универсальным, пригодным для иммобилизации различных ферментов, но в каждом конкретном случае должны быть подобраны максимально возможные концентрации фермента в волокне и другие параметры, при которых влияние диффузионных факторов не приводит к существенному снижению эффективности процесса.

Пористую структуру волокна создают, во-первых, формованием по мокрому способу, а во-вторых, использованием порообразователей [26,27].

Таблица 3.3

Влияние условий получения белоксодержащих плёнок на основе раствора ТАЦ в хлороформе и метиленхлориде на стабильность эмульсий и толщину пленок [24]

№ пп	Растворитель	Концен- трация раство- ра, %	$\eta$ , мПа* с	Стабиль- ность эмульсии	Размер щели в филье- ре, мкм	Толщи- на плёнки, мкм
1	метиленхлорид	3	32.3	нестабильна	-	-
2	метиленхлорид	5	64.0	стабильна	500	50
3	метиленхлорид	7	320.0	стабильна	500	60
4	метиленхлорид	7	320.0	стабильна	750	86
5	хлороформ	3	26.5	нестабильна	-	-
6	хлороформ	5	56.0	стабильна	500	52
7	хлороформ	7	352.0	стабильна	500	63
8	хлороформ	7	352.0	стабильна	750	76

Порообразователями могут быть любые вещества, которые относительно легко удаляются (вымываются, испаряются) из ВБК, а на их месте образуются пустоты. Для сохранения пористой структуры такие ВБК обычно хранят не высушенными во влажном набухшем состоянии.

Следует отметить: если размеры пор будут существенно превосходить размеры молекул ферментов, то вероятность их десорбции из ВБК повышается, и тогда возникает необходимость дополнительного закрепления фермента в полимерной матрице.

Для увеличения пористости и проницаемости волокнистого биокатализатора для молекул субстрата был выбран не традиционный для триацетатного волокна сухой метод формования, а мокрый - в осадительные ванны, содержащие органический растворитель (перхлорэтилен), а также введение в дисперсию порообразователя полиэтиленгликоля (ПЭГ), удаление которого из ВБК в процессе промывки водой приводит к появлению в волокне дополнительных пор [28,29]. Из табл. 3.4 видно, что пористость ВБК в 2-3 раза выше традиционно полученного ТАЦ-волокна [3].

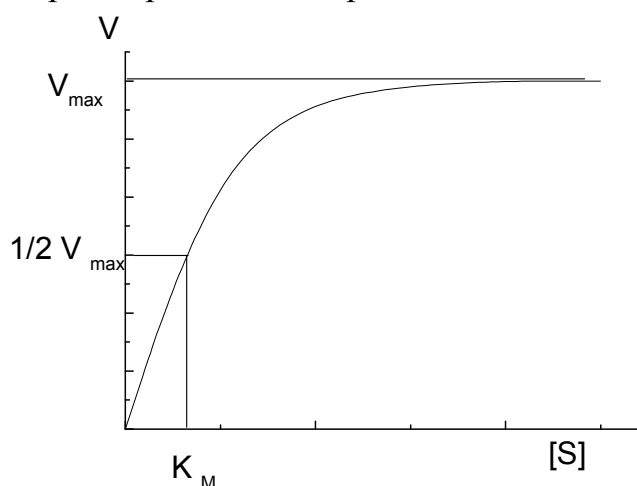
Таким образом, с одной стороны, необходимо прочно закрепить фермент в матрице, а с другой, - создать пористую структуру ВБК, чтобы диффузия молекул субстрата к ферментным молекулам не была лимитирующей стадией биокаталитической реакции [30].

Таблица 3.4

Характеристики пористой структуры триацетатного волокна и ВБК,  
содержащего иммобилизованную  $\beta$ -галактозидазу [3].

Тип во- локна	Суммарный объем пор $W_o$ , $\text{мм}^3/\text{г по}$		Удельная поверхность $S_{\text{уд}}$ , $\text{м}^2/\text{г по}$		Коэффи- циент само- диффу- зии $K \cdot 10^9$ $\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$
	ртутной порометрии	сорбции криптона	десорбции и азота	сорбции криптона	
ТАЦ	83	0.2	0.3	0.3	1.74
ВБК	138	0.6	0.8	0.6	2.24

Типичная кривая зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата приведена на рис. 3.4.



**Рис. 3.4. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата [1]. Пояснения в тексте**

Скорость процесса в гетерогенном катализе определяется соотношением скорости ферментативной реакции ( $V_\phi$ ) и скорости диффузии субстрата к ферменту ( $V_{\text{диф}}$ ), рассчитываемых по уравнениям 3.1 и 3.2 соответственно:

$$V_\phi = \frac{V_{\text{max}} \cdot [C_c]}{K_M + [C_c]} = \frac{k_{\text{кат}} \cdot [C_\phi] \cdot [C_c]}{K_M + [C_c]}, \quad (3.1)$$

где  $V_{\text{max}}$  – максимальная скорость ферментативной реакции;  $k_{\text{кат}}$  – каталитическая константа;  $K_M$  – константа Михаэлиса;  $[C_\phi]$  и  $[C_c]$  – концентрация фермента и субстрата соответственно.

$$V_{\text{диф}} = k_{\text{диф}} \cdot \Delta[C_c], \quad (3.2)$$

где  $k_{\text{диф}}$  – константа скорости диффузии субстрата в структуре волокна;  $\Delta[C_c]$  – разность концентрации субстрата во внешнем растворе и внутри волокна.

Если скорость диффузии не обеспечивает внутри волокна концентрацию субстрата, значительно превышающую  $K_M$ , то скорость ферментативной реакции будет меньше  $V_{\text{max}}$  – максимальной скорости реакции. Фермент, расположенный в области волокна, обедненной субстратом, будет казаться инактивированным [1, 3, 29].

В формовочный раствор может быть введено большое количество фермента (до 500 мг на 1 г) при сохранении активности до 30 -50 % от массы волокна по сравнению с максимально 10 % при ковалентном присоединении на готовое волокно. В этом преимущество данного способа иммобилизации, но при увеличении количества фермента, введенного в структуру волокна и пленок, относительная активность его может снижаться вследствие диффузионных затруднений. Вообще же относительная активность ферментов, включенных в структуру волокон, изменяется в широких пределах от 5 до 80 % от активности нативного фермента [3, 29].

Установлено отсутствие прочной фиксации в структуре волокон и пленок из ТАЦ, ВАЦ и фторполимеров нативных ферментов, молекулярная масса которых ниже 100 000. Десорбция этих ферментов может составлять от 13 до 60% в зависимости от структуры формовочной дисперсии и полученного полимерного материала [3-5]. Для предотвращения десорбции ферментов из волокнистых или пленочных биокатализаторов в формовочную эмульсию добавляют сшивающие реагенты, самым эффективным из которых является глутаровый альдегид. В результате процессов коалесценции-диспергирования происходит смешение водных растворов белка и сшивающего реагента и химическое сшивание белка, сопровождающееся потерей им растворимости в воде и гелеобразованием в частицах дисперсной фазы [30]. Для предотвращения инактивации фермента в процессе взаимодействия с глутаровым альдегидом в состав водной фазы эмульсии вводили аминоксодержащий водорастворимый полимер хитозан[31]. Характеристика биологически активных плёнок, полученных из стабильных эмульсий на основе ТАЦ, приведена в табл. 3.5.

Большинство плёнок (2-7) содержало трипсин, модифицированный хитозаном, образцы плёнок 1 и 8 содержали нативный фермент. Активность иммобилизованного трипсина изменялась в пределах 1,5 – 7,5 Е / г плёнки, что составляло до 38% активности введённого белка. Уменьшение выявляемой активности с увеличением толщины плёнки или величины введённой активности свидетельствует о влиянии на кинетику гидролиза субстрата внутридиффузионных затруднений, поэтому можно предположить значительно меньшую инактивацию трипсина, чем наблюдается при непосредственном измерении активности.



Таблица 3.5

Характеристика образцов плёнок на основе ТАЦ, содержащих иммобилизованный трипсин и хитозан, модифицированные ГА в процессе приготовления формовочной эмульсии [31]

№ пп	Растворитель	Концен- трация раство- ра, %	Тол- щина плён- ки, мкм	Актив- ность трипсина, введённая в плёнку, Е/г	Активность иммобилизован- ного трипсина	
					Е/г	% от введён- ной
1*	метиленхлорид	5	50	20,0	6,4	32,2
2	метиленхлорид	5	56	20,0	4,2	20,7
3	метиленхлорид	7	60	20,0	3,6	18,0
4	метиленхлорид	7	90	20,0	1,5	7,5
5	метиленхлорид	7	90	5,0	0,62	12,4
6	хлороформ	5	50	20,0	7,6	38,0
7	хлороформ	7	50	20,0	5,1	25,4
8*	хлороформ	5	45	20,0	6,0	30,0

\*Образцы плёнок содержат немодифицированный трипсин

Это предположение подтверждается результатами изучения кинетики выделения белка из полученных плёнок (рис.3.5): активный немодифицированный трипсин десорбируется из ТАЦ–плёнок очень быстро (основная часть за 30 минут) и в количестве, превышающем выявляемую активность (50%). Модификация трипсина в формовочной композиции с использованием хитозана приводит к замедлению процесса десорбции белка в физиологический раствор, особенно из плёнок, полученных с использованием хлороформа.

Время испарения хлороформа при формовании плёнок на 2 часа больше, чем метиленхлорида (температура кипения хлороформа 61°C, метиленхлорида 42°C). По-видимому, за это время формируется бездефектная структура полимерного материала с мелкими структурными элементами, затрудняющими массоперенос внутри плёнки (кривые 1 и 8, рис. 3.5).. Помимо пролонгирования действия трипсина, использование хлороформа оказывает меньшее влияние на конформацию белка: активность плёнок, полученных из растворов в хлороформе, выше активности плёнок, полученных испарением метиленхлорида (табл. 3.5) [31].

Полученные закономерности иммобилизации нативных ферментов в структуре волокон и пленок путем формования из белок-содержащих эмульсий были использованы при иммобилизации водорастворимых и нерастворимых модифицированных форм протеолитических ферментов.

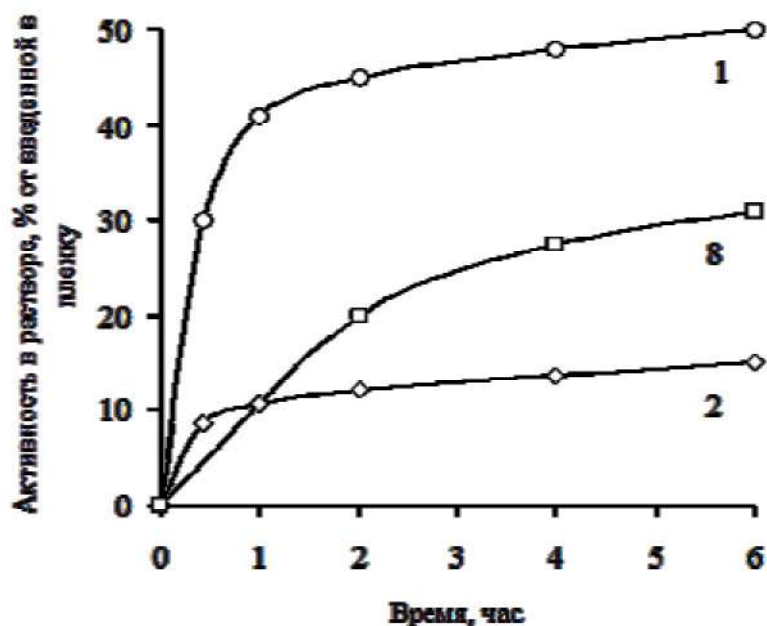


Рис. 3.5. Кинетика выделения белка из пленок на основе ТАЦ в 0,9 % раствор NaCl (40 мл/г пленки). Номера кривых соответствуют номерам образцов в табл. 3.5 [31]

В работе [32] показана возможность воздействовать на скорость выделения  $\alpha$ -химотрипсина из триацетатных пленок путем присоединения к декстрану с различной молекулярной массой. С помощью гетерогенного биокатализаторы на основе протеазы протосубтилина, иммобилизованного на сополимере стирола и малеиновой кислоты, и включенного в структуру триацетатных пленок [33], получен аминокислотный гидролизат, который был использован в качестве компонента соков в рационе спортсменов.

### 3.3. Волокнистые и пленочные формы гетерогенных биокатализаторов и их использование в биотехнологических процессах

Было установлено [3,30], что включение в структуру пленок и волокон из ТАЦ ферментов, модифицированных ковалентной сшивкой глутаровым альдегидом (ГА), позволяет повысить на два порядка термостабильность  $\alpha$ -химотрипсина и на порядок целого ряда других ферментов. Такое модифицирование фермента может быть осуществлено непосредственно в формовочной дисперсии. При этом условиями, обеспечивающими межмолекулярную сшивку фермента, являются высокие концентрации белка и низкая степень протонирования его аминогрупп. Из данных табл.3.6 видно, что уменьшение степени протонирования аминогрупп галактозидазы с ростом pH реакционной среды способствует увеличению скорости модифицирования, но и снижению активности.

Показано, что при включении в структуру волокна большого количества ферментов с высокими значениями удельной активности и  $k_{\text{кат}}$  диффузионные затруднения оказывают существенное влияние на скорость ферментативного процесса.

Таблица 3.6

Зависимость параметров реакции модифицирования  $\beta$ -галактозидазы ГА и инактивации фермента от условий проведения процесса [34,35]

Тем- пера- тура, °C	pH	Константа скорости модифицирования фермента ГА, л·моль <sup>-1</sup> мин <sup>-1</sup>	Активность, % от исходной
20	5.25	1.19	85
20	5.85	1.68	78
20	6.30	2.52	74
30	5.25	2.49	84
30	5.85	2.56	78
30	6.30	5.84	74
40	5.25	2.73	86
40	5.85	3.69	78

Наиболее простым путем уменьшения роли диффузии в гетерогенном биокатализе и увеличения эффективности иммобилизации является снижение содержания активного фермента в полимерном материале, однако при этом снижается общая каталитическая активность, поэтому необходимо использовать оптимизацию процесса иммобилизации с учетом удельной каталитической активности ферментного препарата и диффузионных характеристик ВБК. Обобщенная модель такой оптимизации приведена в работе [3]:

$$\lambda = R \sqrt{\frac{k_{\text{кат}} \cdot [E_0]_B}{K_M \cdot D}},$$

где  $\lambda$  – диффузионный модуль,  $k_{\text{кат}}$  – каталитическая константа и  $K_M$  – константа Михаэлиса нативного фермента,  $E_0$  – активность фермента, введенного в ВБК,  $D$  – коэффициент диффузии субстрата в ВБК.

Учитывая, что условием отсутствия влияния диффузионных факторов на кинетику гетерогенной реакции является  $\lambda < 0$ , выражение для определения максимальной объемной концентрации фермента в ВБК диаметром  $2R$  имеет вид:

$$[E_0]_B = \frac{K_M \cdot D_{\text{эф}}}{k_{\text{кат}} \cdot R^2}.$$

ВБК, содержащие рассчитанные по этому уравнению количества иммобилизованного фермента, обладали высокой относительной активностью, а абсолютные значения каталитической активности ВБК, содержа-

щих иммобилизованные ферменты пенициллинамидазу и  $\beta$ -галактозидазу, обеспечивали высокую эффективность биокаталитических процессов гидролиза бензилпенициллина (при получении 6-аминопенициллановой кислоты) и лактозы в молочной сыворотке.

Установленные закономерности процесса модифицирования ферментов в формовочной дисперсии, оптимизация условий формирования структуры ВБК и анализ особенностей гетерогенного катализа ферментативных реакций с использованием ВБК позволили разработать ВБК, содержащие различные типы гидролитических ферментов: пенициллинамидазу,  $\beta$ -галактозидазу, уреазу, аминоксилазу, трипсин,  $\alpha$ -химотрипсин, протосубтилин и др. Биокатализаторы использовались в биокаталитических процессах синтеза 6-аминопенициллановой кислоты, получения безлактозного молока, оптически активных  $\alpha$ -аминокислот, гидролиза мочевины в аппарате искусственная почка и т.п.

Использование волокнистого биокатализатора, содержащего иммобилизованную  $\beta$ -галактозидазу, в биотехнологическом процессе гидролиза лактозы в молочной сыворотке обеспечило получение сахаристых веществ из нетрадиционных источников сырья, утилизацию сыворотки, решение экологических проблем производства молочной продукции [36]. Волокнистый биокатализатор, содержащий иммобилизованную пенициллинамидазу, был использован при модернизации существующей технологии получения 6-аминопенициллановой кислоты за счет организации процесса гидролиза бензилпенициллина в аппаратах колонного типа [37, 38].

Свойства ВБК, содержащих модифицированные ферменты, полученные в оптимальных условиях, приведены в табл. 3.7 [3].

Биотехнологические процессы в настоящее время применяются, главным образом, в производстве пищевых продуктов и фармацевтических препаратов. Одними из наиболее крупнотоннажных являются процесс получения 6-аминопенициллановой кислоты, являющейся полупродуктом при получении антибиотиков, и процесс гидролиза лактозы - молочного сахара основного небелкового компонента молока.

Известно, что после переработки молока в творог, сыр и др. продукты остается сыворотка, содержащая в большом количестве лактозу. С помощью фермента  $\beta$ -галактозидазы осуществляется ферментативный гидролиз лактозы до глюкозы и галактозы, смесь которых используется в кондитерской промышленности, поскольку по сладости она лишь немного уступает сахару. Этот процесс используется одной из крупнейших фирм - производителей сыров VALIO в Финляндии.

В работе [9] описана установка, осуществляющая биотехнологический процесс гидролиза сахарозы в присутствии иммобилизованного в ТАЦ-волокне ферментного препарата. Получаемый продукт сиропобразная смесь глюкозы и фруктозы по сладости даже превосходит сахар. Про-

изводительность установки 5-6 т сиропа на 1 кг иммобилизованного фермента.

Таблица 3.7

Характеристика ВБК, содержащих различные ферменты

Фермент	Биокаталитический процесс	Активность, мкмоль / г · мин	Эффективность иммобилизации, %	Увеличение стабильности фермента
Пенициллинамидаза	получение 6-аминопенициллановой кислоты	550 (бензилпенициллин pH 7.5, 40°C)	60	в 8-10 раз
β-галактозидаза	получение глюкозо-галактозных сиропов	400 (лактоза pH 4.0, 30°C)	70	в 2-3 раза
трипсин	гидролиз казеина	350 (N-бензоил-L-аргинин-метиловый эфир pH=7.5, 20°C)	25	в 10 раз
протосубтилин	гидролиз пептидов	90 (N-ацетил-L-тирозин-этиловый эфир pH=7.0, 20°C)	25	в 15 раз
аминоацилаза	получение оптически активных α-аминокислот	500 (N-ацетил-L-фенилглицин pH=7.0, 43°C)	90	в 6 раз
уреаза	гидролиз мочевины в биологических жидкостях	450 (мочевина pH=7.0, 20°C)	65	в 2-3 раза

Кроме волоконных биокатализаторов используются и другие, в частности, гранульные, гелевые, но, как показывает сравнительная оценка, волоконные на основе ТАЦ с включенными в структуру ферментами по технологическим и экономическим показателям превосходят другие формы биокатализаторов.

Аппаратурное оформление биотехнологического процесса может быть различным, например, в аппаратах колонного типа с перемешиванием или без него. Показано, что фильтрация раствора субстрата через неподвижный слой ВБК является наиболее эффективным способом взаимодействия субстрата с биокатализатором. Сравнение периодического и непрерывного процессов в реакторе с интенсивной рециркуляцией субстрата показало, что при конверсии 75-80 % удельная производительность

при периодическом процессе в два и более раза выше, чем при непрерывном, что позволило рекомендовать его для практической реализации [36].

Эффективность применения волокнистых биокатализаторов, содержащих иммобилизованные ферменты, включенные в их структуру в процессе формования, разработанных в разные годы на кафедре технологии химических волокон, была проверена в биотехнологических процессах получения аминокислот для парентерального питания, глюкозо-галактозных сиропов, 6-аминопеницил-лановой кислоты в опытных и опытно-промышленных условиях в Институте элементоорганических полимеров им. А.Н.Несмеянова РАН, Всероссийском институте антибиотиков и ферментов, Саранском заводе медпрепаратов, экспериментальном заводе Всероссийского научно-исследовательского молочного института и Московском молочном комбинате.

Интересный способ получения волокнистого биокатализатора, содержащего иммобилизованный фермент орнанофосфатгидролазу (ОФГ) предложен в работах [39-43].

Проблема деградации и детекции нейротоксичных фосфорорганических соединений является крайне актуальной, поскольку сотни тысяч тонн этих веществ, произведенные в последние полвека, представляют серьезную экологическую угрозу. Уничтожение запасов боевых отравляющих веществ осуществляется в настоящее время путем сжигания или обработкой щелочью. Однако эти способы деградации являются неэкологичными и вызывают значительную коррозию оборудования. Кроме того, после обработки щелочью часть фосфорорганических соединений (около 1%) остается непрогидролизованной, и в таких концентрациях также токсичной для человека. Поэтому в последние годы во всем мире отмечен рост интереса к биологическим способам разрушения фосфорорганических нейротоксинов. Ключевым ферментом в процессе биодеструкции, катализирующим гидролиз фосфоэфирной связи в орнанофосфатах, является орнанофосфатгидролаза. Ферментативный способ предполагается использовать преимущественно для детоксикации боевых отравляющих веществ, неразложившихся в результате воздействия щелочи, и для деградации и детекции фосфорорганических пестицидов и инсектицидов. Использование для этих целей нативной ОФГ весьма ограничено высокой стоимостью фермента, определяющейся сложностью ее выделения, а также неудобством применения. Для увеличения стабильности и удобства использования ферментов используют их иммобилизованные формы.

Получение волокнистых биокатализаторов (ВБК), на поверхности которых фермент иммобилизован в полимерной мембране, включает следующие стадии (рис. 3.6):

- 1) приготовление полимерной композиции на основе раствора хитозана или его производного, фермента и ГА;
- 2) выдерживание ткани в полимерной композиции;

- 3) отжим;
- 4) гелеобразование полимерной композиции в результате завершения процесса сшивки ГА, сопровождающееся образованием на ткани тонкой полимерной мембраны.

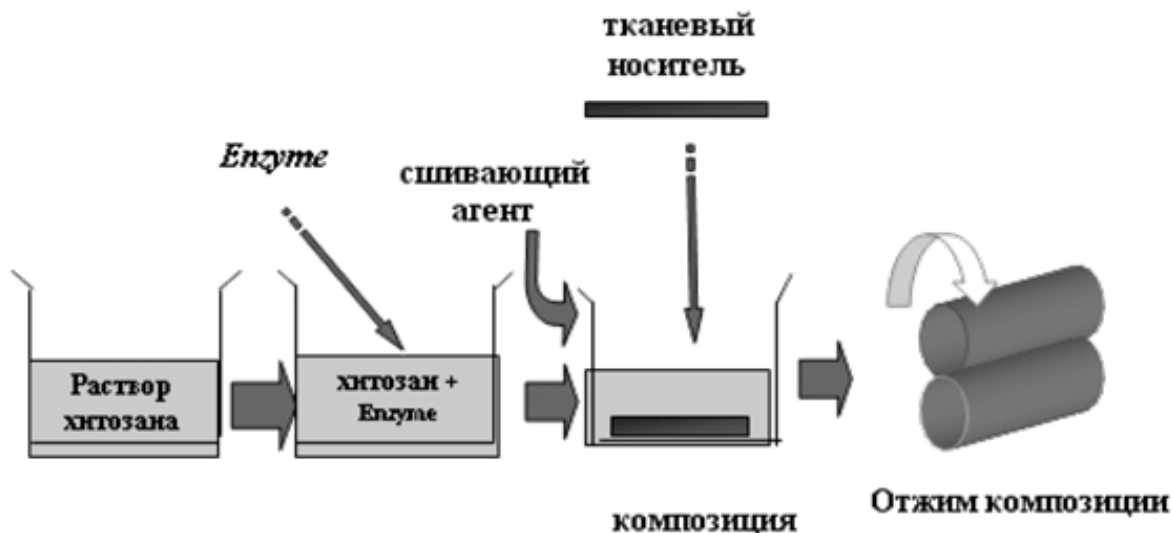
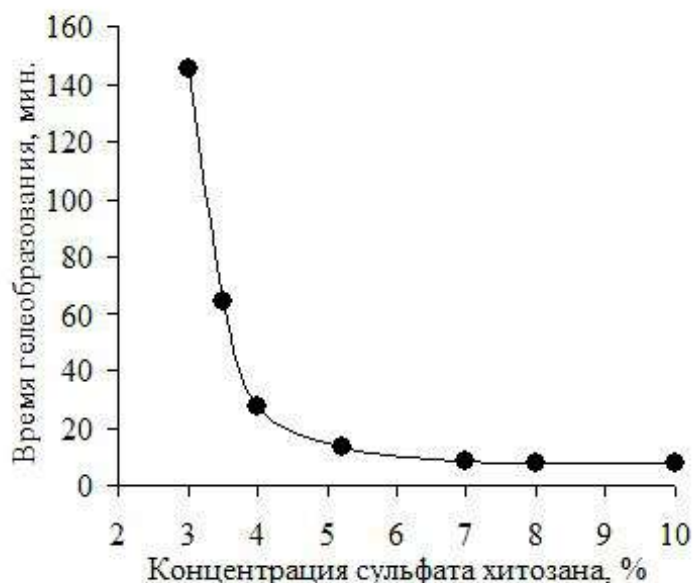


Рис. 3.6. Схема получения волокнистого биокатализатора. [42]

В результате этих операций на поверхности мембраны формируется гидрогелевая пленка, способная удерживать значительное количество воды, что является важным для сохранения активности ферментов, и особенно, органофосфатгидролазы.

Активный центр ОФГ содержит ионы  $\text{Co}^{3+}$  и координационную воду, поэтому носитель должен обладать влагоудерживающей способностью, а условия иммобилизации ограничены величиной  $\text{pH} > 7,5$ . Это явилось причиной низкой активности ОФГ (7-8% активности нативного фермента), иммобилизованной на бязи с использованием композиций на основе растворов хитозана. Эквипонцентрированные растворы сульфата хитозана (СХ) из-за более низкой молекулярной массы ( $M_n$  120 кДа), а также благодаря наличию в его макромолекулах  $\text{SO}_3\text{H}$ -групп значительно менее структурированы по сравнению с растворами хитозана, что позволило авторам [42,43] использовать концентрацию раствора, а не pH в качестве параметра для варьирования времени гелеобразования в процессе сшивки ГА (рис.3.7).

Была изучена эффективность иммобилизации различных количеств ОФГ в гелях СХ с использованием бязи в качестве подложки (рис 3.9). Было показано, что в то время как активность биокатализаторов на основе СХ при увеличении количества вводимого белка возрастает, эффективность иммобилизации снижается вследствие увеличения влияния диффузионных факторов на гетерогенно-каталитическую реакцию.



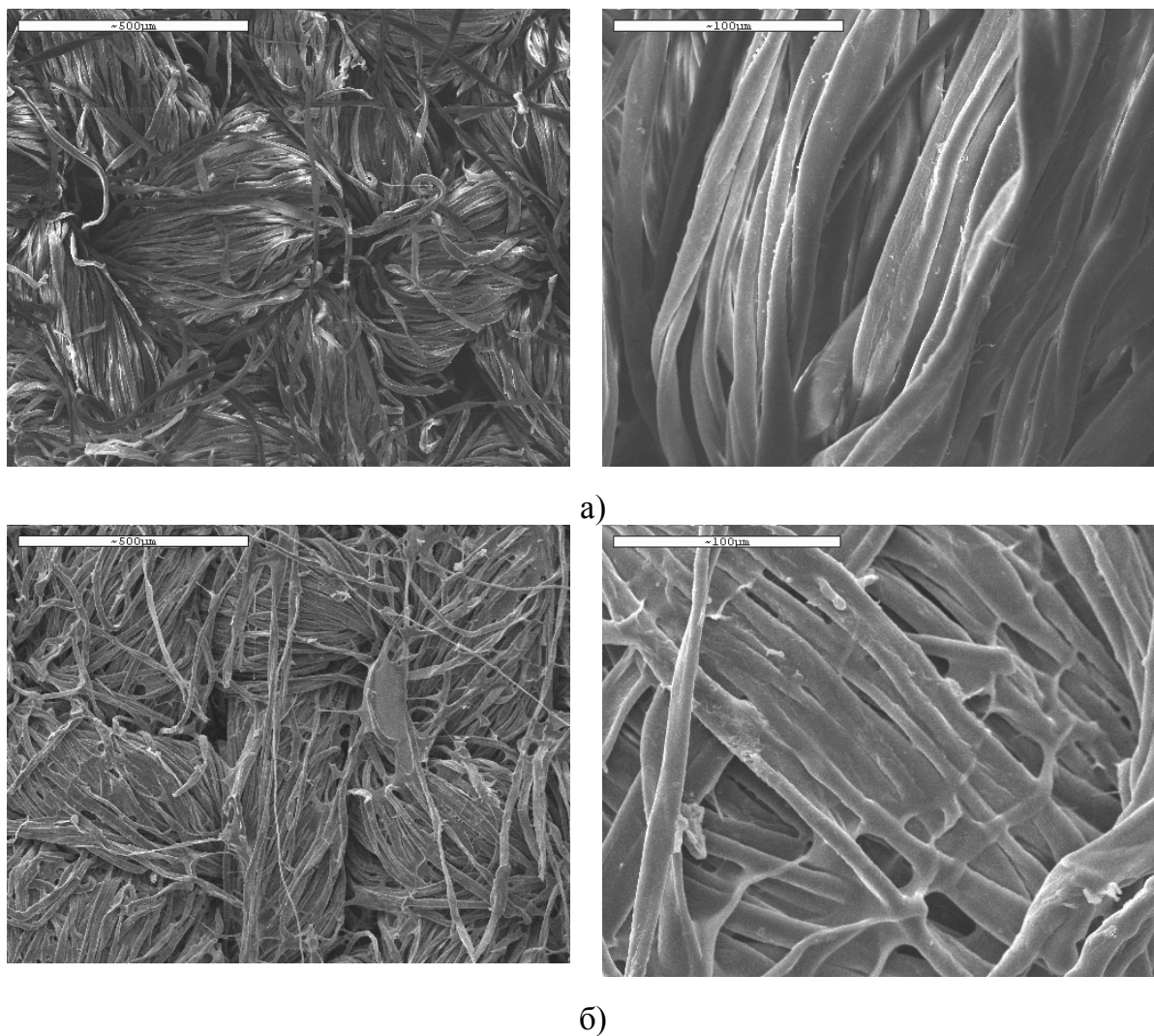
**Рис. 3.7. Зависимость времени гелеобразования от концентрации СХ (рН 8,0, соотношение ГА/ $\text{NH}_2$  0,24 моль/моль) [43]**

Постоянство значений эффективности иммобилизации при введении свыше 0,4 мг белка на 1 г катализатора связано с десорбцией фермента из биокатализатора (рис. 3.9). Микрофотографии поверхности полученных образцов приведены на рис. 3.8: поверхность ткани, обработанной полимерной композицией, отличается от поверхности немодифицированной ткани: поверхность более гладкая, рельефы сглажены, волокна склеены между собой. Тем не менее толщина гидрогелевого слоя не превышает толщину хлопкового волокна (5-6 мкм).

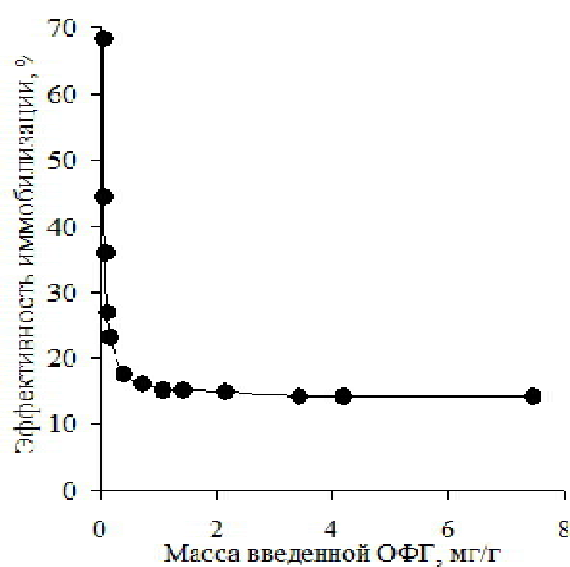
Волокнистый биокатализатор, содержащий ОФГ, предназначен для удаления следов нейротоксинов (фосфорорганических соединений — пестицидов, боевых отравляющих веществ) с поверхности оборудования (столов, приборов, стен и т.п.), а также в качестве индивидуальных средств защиты (салфетки, респираторы). Волокнистые носители обладают высокой удельной поверхностью, поэтому полученные в результате иммобилизации на них органофосфатгидролазы материалы способны не только разлагать нейротоксины, но и сорбировать продукты их деградации.

В результате проведенных исследований был выбран состав композиций на основе 7%-го раствора СХ (рН 8,0) при мольном соотношении ГА/ $\text{NH}_2$  0,24 моль/моль и 0,3 мг наносимого белка на 1 г бязи и определены кинетические параметры реакций гидролиза различных субстратов: параоксона, паратиона, кумафоса и хлорпирифоса, катализируемых иммобилизованным препаратом ОФГ (табл. 3.8).





**Рис. 3.8. Микрофотография поверхности образца бязи (а) и бязи, обработанной гелеобразующей композицией на основе СХ (б)**



**Рис. 3.9. Зависимость эффективности иммобилизации от массы вводимой ОФГ для препаратов тканевого биокатализатора, полученных на основе СХ [43]**

Таблица 3.8

Кинетические параметры реакции гидролиза различных субстратов, катализируемой препаратами растворимой и иммобилизованной ОФГ [43]

Субстрат	Растворимая форма ОФГ			Иммобилизованная форма ОФГ		
	$K_m$ , мМ	$V_{\max}$ , мкМ/мин	$V_{\max} / K_m \cdot 10^{-3}$ , мин <sup>-1</sup>	$K_m$ , мМ	$V_{\max}$ , мкМ/мин	$V_{\max} / K_m \cdot 10^{-3}$ , мин <sup>-1</sup>
Параоксон	0,46±0,03	32,1 ± 1,2	70 ± 2,5	1,36±0,07	21,31±0,8	15,8 ± 0,1
Паратион	1,54±0,05	9,7 ± 0,5	6,3 ± 1,0	3,43 ± 0,1	6,42 ± 0,3	1,9 ± 0,3
Кумафос	1,58±0,06	9,4 ± 0,4	5,9 ± 1,5	5,71 ± 0,2	6,21 ± 0,4	1,1 ± 0,2
Хлорпирифос	1,59±0,04	9,1 ± 0,4	5,7 ± 1,0	4,71 ± 0,4	6,19 ± 0,6	1,3 ± 0,2

Значения  $K_m$  иммобилизованного фермента, полученные для различных субстратов, были выше аналогичных параметров для растворимой формы ОФГ, что является следствием диффузионных ограничений, обусловленных наличием пространственных затруднений для диффузии субстратов и продуктов реакции в объеме геля, а также наличием сильнозаряженных групп носителя. рН-оптимум каталитической активности иммобилизованной ОФГ в результате иммобилизации оказался смещен в более щелочную область относительно рН оптимума исходного ферментного препарата приблизительно на 0,5 единицы и составил 9,5. Такое смещение вызвано влиянием эффектов распределения протонов внутри полиамфолитной матрицы носителя.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования разработанного препарата иммобилизованной ОФГ для детоксикации фосфорорганических нейротоксинов путем гидролиза эфирной связи в различных триэфирах ортофосфорной кислоты.

Аналогичный способ иммобилизации и его аппаратное оформление были использованы для получения салфеток с протеолитической активностью. В работе [44] проведены сравнительные исследования влияния строения аминополисахарида на эффективность иммобилизации протеазы трипсина – фермента, стабильного в широком диапазоне рН, свойства которого в нативном и иммобилизованном состоянии достаточно хорошо изучены. Кроме того, текстильные материалы, содержащие протеазы, перспективны для использования в качестве перевязочных средств, ускоряющих лечение ран на стадии гидратации [45]. При иммобилизации трипсина на бязи с использованием хитозана и ГА выход по активности достигал 22-36% в зависимости от введенной активности в расчете на единицу массы ВБК.

При иммобилизации трипсина на бязи с использованием растворов СХ можно увеличить рН полимерной композиции, приблизив его к рН-

оптимуму фермента, при этом выход по активности возрастает (табл. 3.9). Уменьшение количества трипсина, введенного в ВБК, за счет снижения его концентрации привело к увеличению выхода по активности до 44%. Увеличение концентрации раствора пленкообразующего полимера до 10% позволило уменьшить концентрацию ГА в композиции, в результате чего эффективность иммобилизации возросла: выход по активности образца 4 (табл. 3.9) составил 52,4%. Приведенные данные свидетельствуют о том, что на выявляемую активность биокатализатора может оказывать влияние как инактивация фермента в результате модифицирования аминокрупп, входящих в состав активного центра трипсина, так и диффузионные факторы.

Таблица 3.9

Результаты иммобилизации трипсина на бязи с использованием гелей СХ, сшитого ГА [44]

№ п/п	Условия получения геля		Условия получения ВБК			Эффективность иммобилизации	
	Концентрация раствора СХ, %	рН раствора СХ	Соотношение ГА/ $\text{NH}_2$ , моль/моль	Кол-во трипсина, введенного в ВБК, мг/г ВБК	Введенная активность, Е/г ВБК	Активность ВБК (А), Е/г	Выход по активности, % от введенной
1	7	7,2	5,6	3,7	6,4	2,3	35,0
2	7	7,2	5,6	4,1	7,2	2,3	32,0
3	7	7,2	5,6	2,2	3,8	1,7	44,0
4	10	6,8	0,25	2,2	3,8	2,0	52,4
6	10	4,1	0,8	2,2	3,8	1,8	48,0

Образцы ВБК на основе хитозана и СХ, содержащие иммобилизованный трипсин, были испытаны при многократном гидролизе специфического субстрата метилового эфира N-бензоил-L-аргинина (БАМЭ). Активность образцов ВБК, полученных путем гелеобразования на поверхности целлюлозной ткани белоксодержащих композиций на основе хитозана, практически не изменяется после 10 циклов гидролиза (кривые 2 и 3, рис.3.10), а у ВБК на основе СХ в 4-6 циклах активность снижается почти на 10%. Авторы объясняют этот факт меньшим соотношением ГА/ $\text{NH}_2$  в точке гелеобразования 10%-го раствора СХ.

В работе [46] при исследовании кинетики инактивации нативного трипсина и ВБК в термоусловиях, исключающих автолиз (рН 3,0), были получены нетипичные зависимости: в первые несколько часов активность образцов ВБК не уменьшалась, а наоборот, увеличивалась, в то время как активность нативного трипсина закономерно снижалась (рис. 3.11). При выдерживании бязи с поверхностной гелевой мембраной в водном растворе при 50<sup>0</sup>С происходит набухание геля, вследствие этого увеличивается скорость диффузии субстрата, и биокаталитическая реакция постепенно

переходит из диффузионной области в кинетическую, при этом выявляемая активность возрастает.

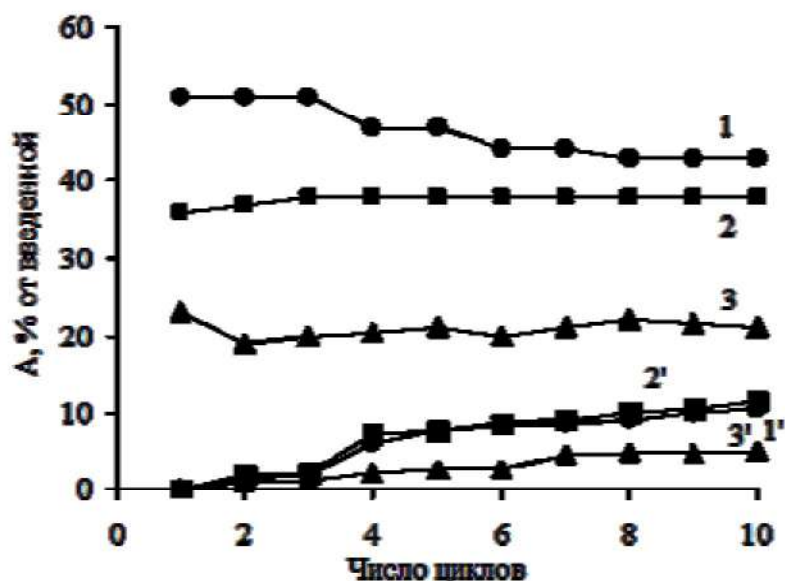


Рис. 3.10. Изменение активности (1, 2, 3) и выделение белка (1', 2', 3') в процессе многократного гидролиза субстрата (БАМЭ) ВБК на основе CX (1) и хитозана (2,3) [46]

Таким образом, кривые 1 и 2 на рис. 3.11 описывают два конкурирующих процесса: увеличение выявляемой активности и инактивацию под действием температуры [46].

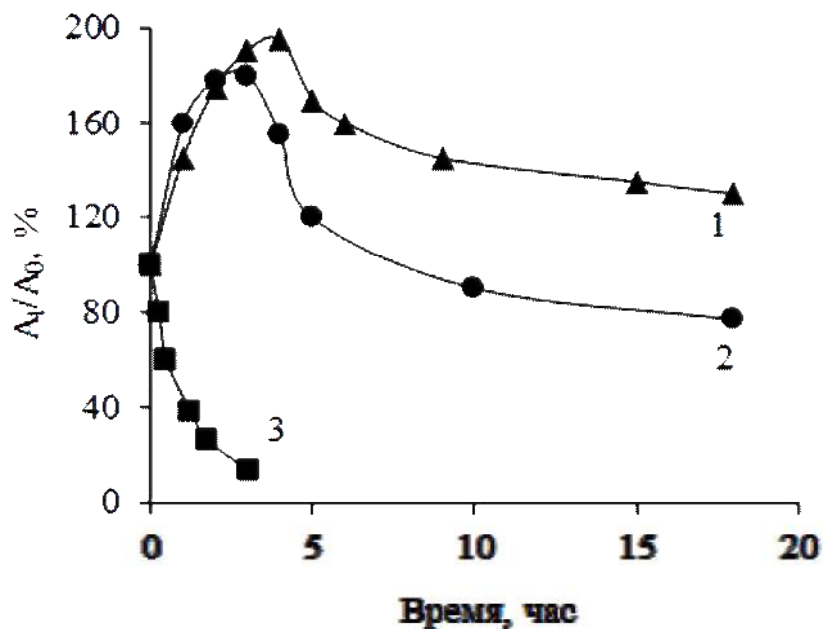


Рис. 3.11. Кинетика инактивации содержащих иммобилизованный трипсин ВБК, полученных с использованием CX (1) и хитозана (2), и нативного фермента (3). (50°C; pH 3,0) [46]

Для получения гетерогенных биокатализаторов в процессе иммобилизации необходима стадия мягкого модифицирования фермента в формовочной композиции, которая обеспечивает прочную фиксацию фермента внутри волокна. Совсем иной подход к иммобилизации ферментов в структуре полимерных материалов, предназначенных для использования в медицине, когда возможность лечебного действия связана с поступлением в организм биологически активного белкового компонента.

Исследования, описанные в следующей главе, позволили авторам [47-51] путем включения в структуру волокон в процессе формования разработать ассортимент ферментсодержащих хирургических средств, обладающих выраженным лечебно-профилактическим действием: покрытия на рану, дренажи, шовные нити, использование которых в экспериментальной и клинической хирургии позволяет сократить сроки лечения ран и ожогов и уменьшить расход дорогостоящих ферментных препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Иммобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы / под ред. И. В. Березина, Антонова В.К., Мартиника К. – М.: 1976. – 296 с.
2. Введение в прикладную энзимологию. Иммобилизованные ферменты / под ред. И. В. Березина, К. Мартиника. – М.: Изд-во МГУ, 1982. – 384 с.
3. *Кильдеева Н.Р.* Научные основы получения волокнистых и пленочных биокатализаторов из белоксодержащих формовочных дисперсий: Дис. ... докт. хим. наук – М.: МГТА им. А. Н. Косыгина, 1998. – 277 с.
4. *Вирник А.Д., Красовская С.Б., Кильдеева Н.Р., Водолазская Л.В., Бибер Б.Л., Соломон З.Г., Нечаева Л.Н., Мевх А.Г.* Получение волокнистых материалов, содержащих иммобилизованные ферменты. // Промышленность химических волокон. Обзорная информация. М.: НИИТЭХим, 1985. – 58 с.
5. *Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б., Водолазская Л.В., Соломон З.Г., Бибер Б.Л.* Иммобилизация ферментов в структуре волокон и пленок в процессе их формования. I. Иммобилизация немодифицированных ферментов (обзор) // Биотехнология. – 1987. – Т.4. – №6. – С.602-611.
6. *Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б., Водолазская Л.В., Соломон З.Г., Бибер В.Л.* Иммобилизация ферментов в структуре волокон и пленок в процессе их формования. II. Иммобилизация модифицированных ферментов (обзор) // Биотехнология. – 1988. – Т.5. – №1. – С.91-96.
7. *Кильдеева Н.Р., Вирник А.Д., Гостищев В.К., Хомяков К.П., Толстых П.И., Василькова З.Ф.* Получение пленок и волокон, содержащих протеолитические ферменты, и применение их в хирургической практике // Прикл. биохим. и микробиол. – 1987. – Т.23. – №1. – С.78-83.

8. Волокна с особыми свойствами / под ред. Л.А.Вольфа. – М.: Химия, 1980. – 236 с.
9. Вихорева Г.А., Скокова И.Ф., Кильдеева Н.Р. Волокнистые и пленочные материалы для медицины и биотехнологии // Учебное пособие – М: МГТУ им.А.Н.Косыгина, 2005. – 56с.
10. Белова А.В., Юданова Т.Н., Гальбрайт Л.С. Получение биологически активных целлюлозных волокон, модифицированных обработкой Ксибетеном-цел // Химия растительного сырья. – 2010. – Т. 4. – С. 11-15.
11. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Власов Л.Г., Вирник А.Д. Получение модифицированного целлюлозного волокнистого материала, содержащего иммобилизованный протеолитический фермент террилитин // Известия вузов. Технология текстильной пром-сти. – 1986. – №3. – С.75-77.
12. Virnik A.D., Skokova I.F., Khomyakov K.P., Kildeeva N.R., Trusova S.P., Vysotskaya E.P. Development of bandage materials based on natural and synthetic polymers containing immobilized enzymes // Russian Biochemistry and Biotechnology. – 1991. – V.1 – №.2/3. p.45
13. Corno C., Galli G., Morisi F., Bettonte M., Stopponi A. Glucoamylase entrapped into cellulosic fibres. Properties and use // Starch. – 1972. – V. 24. – №12. – P. 420–424.
14. Marconi W., Gulinelli S., Morisi F. Properties and use of invertase entrapped in fibers // Biotechnology and Bioengineering – 1974. – V. 16 – Issue 4. – P. 501–511.
15. Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б., Бибер Б.Л., Соломон З.Г. Иммобилизация ферментов в структуре волокон и пленок // Антибиотики и мед.биотехнол. – 1986. – №2. – С.117-122.
16. Галкин С.А., Кильдеева Н.Р., Вирник А.Д., Гальбрайт Л.С. О влиянии состава прядильных композиций, используемых для формирования волокна-биокатализатора, на их реологические свойства // Журн. прикл. хим. – 1988. – №7. – С.1671-1673.
17. Кильдеева Н.Р., Вирник А.Д. Особенности реологических свойств высоконаполненных белоксодержащих формовочных композиций // Хим.волокна. – 1995. – №5. – С.21-27.
18. Чернышева Ю.В., Бабак В.Г., Филатова С.В. Роль адсорбции белка в микрокапсулировании ферментов // Химическая технология. – 2004. – №6. – С.18-20.
19. Merkovich E., Mironov A., Babak V., Kildeeva N.R., Rinaudo M. Formation and properties of surfactant – polyelectrolyte complexes gel microcapsules for enzyme delivery // Mater. XII Inter. Workshop on bioencapsulation. – Spain, Vitoria, 2004. – P.363-366.
20. Babak V.G., Chernysheva Yu.V., Kildeeva N.R., Tihonov V.E., Baros F., Dumas D., Ubrich N., Maincent Ph. Colloid aspects of nano- and micro-encapsulation of bioactive substances by emulsification-solvent evaporation

method // Mater. XII Inter. Workshop on bioencapsulation. – Spain, Vitoria, 2004. – P. 41-44.

21. Кильдеева Н.Р. Особенности получения наполненных волокон из композиций, содержащих биологически активные белки // Вестник МГТА. – 1997. – С.87-89.

22. Кильдеева Н.Р., Казанская Н.Ф., Вирник А.Д. Иммобилизация в структуре волокон и пленок протеолитических ферментов // Изв. ВУЗов. Химия и хим.технол. – 1979. – №2. – С.225-229.

23. Кильдеева Н.Р., Шаркова Е.Ф., Вирник А.Д. Получение волокон и пленок из фторопласта 42 с протеолитическим ферментом // Хим.волокна. – 1980. – №6. – С.24- 26.

24. Kildeeva N.R., Galkin S.A., Anokhina O.A., Virnik A.D., Galbraich L.S. Rheological properties of spinning compositions based on triacetate cellulose solutions for the obtained of enzyme-contained fibers // Cell.Chem.Technol. – 1993. – V.27. – №6. – P.655-669.

25. Димитров Д.В., Гальбрайх Л.С., Шульчишин В.А. Моделирование свойств ферментсодержащих дисперсий // Хим.волокна. – 1998. – №3. – С.42-44.

26. Кильдеева Н.Р., Галкин С.А., Гальбрайх Л.С., Вирник А.Д. Влияние полиэтиленгликоля на реологические свойства формовочных композиций для получения волокон-биокатализаторов // Хим. волокна. – 1997. – №3. – С. 9-12.

27. Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б. Научные и технологические основы создания и применения волокон-биокатализаторов // Хим.волокна. – 1994. – №5. – С.28-36.

28. Пат. 1198955 РФ. Композиция для получения биокатализаторов /Хомяков К.П., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б., Вирник А.Д., Скокова И.Ф., Нечаева Л.Н., Соломон З.Г., Бибер Б.Л., Тавобилов И.М. – 1993.

29. Красовская С.Б., Кильдеева Н.Р., Царевская И.Ю., Вирник А.Д., Филиппова О.И. Влияние структуры полимерных материалов на свойства иммобилизованных в них ферментов // Прикл.биохим. и микробиол. – 1988. – Т.24. – №3. – С.375-379.

30. Кильдеева Н.Р., Гальбрайх Л.С. Управление процессом фиксации белка в структуре химических волокон и пленок // Хим. волокна. – 1999. – №4. – С.29-32.

31. Вихорева Г.А., Ларионова А.С., Гальбрайх Л.С. Перспективы использования хитозана для создания терапевтических систем // Матер. Междунар. научн. конф. «Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов». – Минск, 1998. – С.14-15.

32. Кильдеева Н.Р., Ларионова Н.И., Казанская Н.Ф., Вирник А.Д. Иммобилизация модифицированного  $\alpha$ -химотрипсина в структуре пленок из триацетата целлюлозы // Биохимия. – 1980. – Т.45. – С.569-574.

33. *Вирник А.Д., Слободяникова Л.С., Латов В.К., Беликов В.М.* Включение в полимерные пленки протосубтилина Г-3Х, иммобилизованного на сополимере стирола и малеиновой кислоты координационными связями в присутствии ионов  $\text{Cr}^{3+}$  // Прикл.биохим. и микробиол. – 1985. – Т.21. – №4. – С.501-535.

34. *Матвеев Д.В., Красовская С.Б., Кильдеева Н.Р., Кукушкина С.А., Ко-эвалова Л.Я., Негодяева Г.С., Вирник А.Д.* Исследование структуры волокна-биокатализатора, содержащего модифицированную  $\beta$ -галактозидазу // Хим.волокна. – 1989. – №1. – С.21-23.

35. *Матвеев Д.В., Шульчишин В.А., Вирник А.Д., Красовская С.Б., Кильдеева Н.Р.* Исследование зависимости активности  $\beta$ -галактозидазы, иммобилизованной в структуре волокна из триацетата целлюлозы, от pH и температуры // Прикл.биохим. и микробиол. – 1989. – Т.25. – №5. – С.614-617.

36. *Шульчишин В.А., Матвеев Д.В., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б., Вирник А.Д.* Рациональная организация технологического процесса гидролиза лактозы молочной сыворотки в присутствии гетерогенного волокнистого биокатализатора // Прикл.биохим. и микробиол. – 1994. – Т.30. – №1. – С.143-149

37. *Журавлев А.К., Кантырева Е.И., Скворцова Е.Е., Ныс. П.С., Нечаева Л.Н., Кильдеева Н.Р., Красовская С.Б.* Исследование свойств биокатализаторов в реакторах перемешивания и проточного типа // В сб. «Успехи в области изучения и производства антибиотиков». – 1985. – №15. – С.235-248.

38. *Шульчишин В.А., Красовская С.Б., Хомяков К.П., Вирник А.Д.* Математическая модель периодического процесса гидролиза бензилпенициллина с использованием волокна-биокатализатора, содержащего модифицированную пенициллинамидазу // Хим.фарм. журнал. – 1993. – №4. – С.52-54.

39. *Перминов П.А., Перегудов А.А., Ефременко Е.Н., Кильдеева Н.Р.* Получение ферментсодержащих текстильных материалов // Тез. докл. II Междунар. научно-технич. конф. «Достижения текстильной химии – в производство» (Текстильная химия -2004). – Иваново, 2004. – С.62-63.

40. *Peregudov A., Kildeeva N., Perminov P., Vikhoreva G., Efremenko E.* Chitosan gels with entrapped enzyme hydrolyzing pesticides and chemical warfare agents // Mater. XII Inter. Workshop on bioencapsulation. – Spain, Vitoria, 2004. – P.230-233.

41. *Перегудов А.А., Кильдеева Н.Р., Ефременко Е.Н.* Различные подходы к созданию стабильных ферментных препаратов на основе органотригидролазы // Сб. тез. 8-й Междунар. Пушкинской школы-конф. молодых ученых. – Пушкино, 2004. – С. 274.

42. Пат. 2261911 РФ, МПК C12N 11/02, C12S 9/00, C12S 13/00 Способ получения биокатализатора и биокатализатор для детоксикации фос-



форорганических соединений / Ефременко Е.Н., Перегудов А.А., Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Перминов П.А., Варфоломеев С.Д. – № 2004107942/13; заявл. 18.03.2004,опубл. 10.10.2005.

43. *Efremenko E., Perminov P., Kildeeva N., Perminov P., Varfolomeev S.* New enzymatic immobilized biocatalysts for detoxification of organophosphorus compounds // *Biocatalysis and Biotransformation*. – 2005. – V.23(2). P. 103-108.

44. *Азарова А.И., Перминов П.А., Кильдеева Н.Р., Михайлов С.Н., Владимиров Л.В.* Гелеобразование в полимерных композициях для модификации волокнистых материалов // *Хим. волокна*. – № 2. – С.7-12.

45. *Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Дронова М.В., Гальбрайх Л.С.* Текстильные материалы медицинского назначения с комбинированным биологическим действием: получение и свойства // *Текстильная химия*. – 1998. – №1 (13). – С. 96-102.

46. *Перминов П.А.* Закономерности взаимодействия хитозана с глутаровым альдегидом и их использование при получении ферментсодержащих полимерных материалов: Дис. ... канд. хим. наук – М.: МГТУ, 2007. – 152с.

47. *Толстых П.И., Гостищев В.К., Казанская Н.Ф., Ларионова Н.И., Василькова З.Ф., Кильдеева Н.Р., Сахаров И.Ю.* Применение иммобилизованных ферментов и их производных ингибиторов в хирургии // *Хирургия*. – 1983. – №6. – С.94-96.

48. *Кильдеева Н.Р., Ларионова Н.И., Мороз Н.А.* Инженерно-энзимологические подходы к дизайну полимерных форм апроктинина // *Вестник МГУ. Химия*. – 1995. – Т.36. – №2. – С. 139-144.

49. *Gostishev V.K., Tolstikh P.I., Galbraich L.S.* Development of the fibre with protease controlled release for obtained surgical suture materials. // 24th Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. – Stockholm, 1997. – P.603-604.

50. *Толстых П.И., Арутюнян Б.Н., Стручков Ю.Б., Беляева О.А., Красовская С.Б.* Биологически активный шовный материал как средство профилактики нарушений заживления ран // *Хирургия*. – 1980. – №5. – С.103-108.

51. *Вихорева Г.А., Гальбрайх Л.С., Миронов А.В., Бонарцева Г.А., Перминов П.А., Ромашова А.Н.* Получение биodeградируемых пористых пленок для использования в качестве раневых покрытий // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2006. – Т. 42. – № 6. – С. 716-720.

## **4. РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВОЛОКНИСТЫХ И ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ХИРУРГИИ**

Несмотря на значительные достижения современной медицины, проблема борьбы с хирургической инфекцией остается актуальной и в настоящее время. Значимость проблемы хирургических инфекций кожи и мягких тканей подтверждается тем фактом, что в структуре первичной обращаемости к общему хирургу их частота достигает 70%. В структуре инфекций частота хирургических инфекций мягких тканей (послеоперационные нагноения, постинъекционные осложнения и т.д.) достигает 36%, в России – 24%. Инфекции кожи и мягких тканей – наиболее частая причина обращения пациентов за хирургической помощью: 10% госпитализаций в Великобритании. В США инфекции кожи и мягких тканей являются причиной 330 000 госпитализаций в год. По экспертным оценкам, ежегодно в РФ эта патология наблюдается примерно у 700 тыс. пациентов[1]. Основными материалами, которыми пользуются хирурги – это перевязочные средства и раневые покрытия, дренажи и хирургические шовные нити. В этой главе проанализирована литература в области получения волокнистых и пленочных материалов, которые могут использоваться в качестве хирургических средств, и придания им различных видов биологической активности.

### **4.1. Перевязочные материалы и раневые покрытия. Общая характеристика материалов для лечения поражений кожи**

Кожа - сложная структура, состоящая из верхнего слоя - эпидермиса, далее идет дерма, затем подкожная жировая ткань. Все слои пронизаны кровеносными сосудами и нервными клетками. Основными функциями, выполняемыми кожей, являются защитная и транспортная, последняя связана с газо-, водо-, жиро-, теплообменом. К поражениям и заболеваниям кожи относятся ожоги, травмы, язвы, огнестрельные и другие раны.

При лечении кожи прежде всего необходимо закрыть пораженный участок [2]. При больших поражениях делают ушивание ран иногда с подтяжкой кожи. Идеальным материалом для закрытия больших ран является кожа донора, но не всегда ее можно найти в достаточном количестве, и не всегда кожа донора совместима с организмом больного.

Недостатком традиционно используемых для закрытия и лечения ран волокнистых материалов на основе целлюлозы (бинты, марля, вата) являются их не оптимальные массообменные свойства. Так, хорошо впитывая экссудат, они очень быстро отдают влагу в окружающую среду, и в результате с внешней стороны повязки образуется корка, затрудняющая дальнейший массообмен, а со стороны раны из-за слишком большой адгезии повязка присыхает к тканям. Из-за корок на внешней стороне повязку

надо часто менять, а из-за адгезии и присыхания при смене повязки происходит травмирование раны.

Наряду с традиционными целлюлозными волокнистыми материалами в последнее время все шире используют модифицированные целлюлозные перевязочные средства, а также перевязочные средства на основе других полимеров, в том числе в виде пленочных, губчатых и так называемых, гидрогелевых покрытий и даже в виде растворов или аэрозолей, которые затвердевают на ране.

Сформулированы требования к таким материалам [3,4]:

- достаточная прочность, способность защитить от загрязнений, воздействия патогенных микроорганизмов, механических воздействий,
- способность сорбировать экссудат (гнойное отделяемое),
- воздухопроницаемость, так как присутствие кислорода способствует заживлению и, главное, восстановлению новой кожи,
- наличие лекарственного, желательно, комбинированного и пролонгированного действия (подавление развития гнойной инфекции, гемостатическое, анестезирующее действие, стимулирующее восстановительные процессы и др.) ,
- наличие необходимой адгезии к тканям, но и атравматичность,
- в некоторых случаях рассасываемость и биодеструктируемость.

Трудно представить повязку, которая удовлетворяла бы всем этим требованиям в полной мере и являлась универсальной, то есть пригодной для лечения ран различного происхождения (этиологии). Поэтому необходимо иметь достаточно широкий ассортимент перевязочных средств, позволяющий выбирать их в соответствии с видом раны и стадии заживления.

Различают три стадии процесса заживления ран [2]. Первая стадия - воспалительный процесс, для которого характерно наличие обильного экссудата, отека и микрообсемененности. На второй стадии начинается процесс регенерации новых тканей (репарация) и на третьей происходит эпителизация, то есть образование поверхностных слоев кожи.

Повязки, используемые на первой стадии раневого процесса, кроме защиты раны от механических воздействий и внешней инфекции, должны обладать большой поглощающей (сорбционной и дренирующей) способностью, чтобы рана очищалась от некротических масс. Но на этой же стадии течения раневого процесса повязка должна оказывать и лечебное действие, в частности, ускорять протекание некролитических процессов и убивать внутренних микробов. А на второй и третьей стадиях, когда рана заживает, повязка должна, главным образом, стимулировать рост новой кожи - процесс, который называется регенераторным (репаративным, восстановительным) [2,3].

Очень хорошими сорбционными свойствами обладают повязки, в которых основным “рабочим” слоем является углеродное волокно [4], полу-

чаемое карбонизацией природных и химических волокон. Сорбционные свойства углеродных волокнистых материалов (УВМ) обусловлены высокой пористостью таких материалов (удельная поверхность до  $1000 \text{ м}^2/\text{г}$ ). Кроме того углерод нетоксичен (это знали очень давно, и углем присыпали раны), инертен. Недостатки угля - его черный цвет и сыпучесть, однако помещением УВМ в белый марлевый или трикотажный мешочек отчасти решают эту проблему. Предпринимаются также попытки обработки углеродных волокон полимерным связующим. Повязки “Урал”, “Волна” и другие на основе УВМ, в разработке которых принимали участие и сотрудники кафедры ТХВ МГТУ, уже используются в клинической практике. В материалах IV международной конференции по перевязочным и шовным материалам отмечено, что УВМ - это наиболее перспективный вид перевязочных средств для лечения первой фазы раневого процесса.

Наряду с высокосорбционными повязками из УВМ для лечения первой фазы раневого процесса используются и полимерные пленочные повязки, например, на основе водорастворимого ПВС [5-9]. В принципе, любой другой водорастворимый или высокогидрофильный полимер может быть использован для создания таких повязок [3]: КМЦ, альгинаты, амилоза, хитозан, коллаген и др., а также продукты их взаимодействия - интерполимерные и полиэлектролитные комплексы. Отметим, что среди названных больше биодеструктируемых полимеров природного происхождения, и только ПВС является синтетическим карбоцепным не биодеструктируемым полимером. Пленки из ПВС имеют важное достоинство – они прозрачны и позволяют наблюдать за процессом заживления ран, как это показано на рис. 4.1.



**Рис. 4.1. Лечение раны покрытием биологически активной ПВС-пленки**

Возможность биоразрушения повязок на основе природных полимеров является их преимуществом, поскольку сильное набухание за счет сорбированного гнойного экссудата неизбежно сопровождается частичным попаданием полимера в рану, кровь и в организм. Сорбционная способность разработанных к настоящему времени повязок достигает сотни и даже тысячи процентов, то есть они могут поглощать 5-10- и даже 20 - кратные количества экссудата, сохраняя при этом целостность, но переходя, конечно, в сильно набухшее (иногда гелеобразное) состояние. Такие вещества иногда называют гидрогелями, или гидроколлоидами. Достоинство гидроколлоидных повязок перед целлюлозными в том, что они, поглощая из раны влагу не сразу отдают ее во вне, а удерживают, поддерживая в ране определенную влажность и предотвращая образование струпа [5].

Примерами таких новых пленочных перевязочных средств из полиэлектролитных комплексов (ПЭК) на основе коллагена являются Альгикол - ПЭК на основе альгината и коллагена и Коллахит - ПЭК на основе коллагена и хитозана [3-5]. Коллаген - натуральное полимерное волокнистое вещество белковой природы, выделяемое из сухожилий и других тканей животных, очень широко используется для медицинских целей. Именно белково-полисахаридные покрытия показали отсутствие цитотоксичности (нетоксичность по отношению к живым тканям). Такие пленочные гидроколлоидные покрытия необходимы для лечения особенно болезненных и трудно поддающихся лечению обширных ожоговых ран, хронических язв и пролежней. Более того, для лечения ожоговых ран целесообразно использовать даже не пленки, а губки, то есть более пористые покрытия, еще менее травмирующие раны и как бы прорастающие новой кожей. Один из таких губчатых материалов Коласпон разработан отечественными учеными и успешно применяется для лечения донорских ран после взятия кожи для пересадки и ожогов II- III степени [3,5].

#### **4.2. Получение пленочных раневых покрытий, содержащих иммобилизованные протеолитические ферменты**

Учитывая, что в основе лечения и очищение ран лежат ферментативные процессы, для придания повязке способности ускорять их в нее наряду с антимикробными веществами, о которых мы говорили раньше, вводят протеолитические ферменты. Использование ферментных препаратов обусловлено еще и тем, что применение антибиотиков и некоторых антисептиков не всегда желательно в связи с наличием противопоказаний, таких, как беременность, ранний возраст, аллергические проявления и др.

Ферменты в медицине используются для лечения и профилактики заболеваний, в основе которых лежит ферментная недостаточность. Заболевание или ранение организма безусловно активизирует ферменты, имеющиеся в организме, но для повышения содержания ферментов в очаге

поражения необходимо их дополнительное введение. Особенно эффективно использование ферментов для лечения гнойных инфекций, которые являются наиболее массовым видом заболеваний и осложнений. Дело в том, что гнойное отделяемое – раневый экссудат, наряду с некротическими тканями является питательной средой для патогенных микроорганизмов и в то же время субстратом для протеолитических ферментов. Поэтому на первой фазе течения раневого процесса патогенетически обоснованным является использование протеаз трипсина,  $\alpha$ -химотрипсина, террилитина, протосубтилина и т.п. Однако быстрая инактивация ферментов в раневой среде обуславливает увеличение расхода ферментных препаратов и удорожание курса лечения. Кроме того значительное увеличение количества вводимого в рану фермента нежелательно из-за возможного аллергенного и антигенного действия препарата. Как известно, устранить указанные недостатки протеолитических ферментов позволяет их иммобилизация [3,5].

Иммобилизованный фермент представляет собой гармоничную систему, свойства и действие которой определяются правильным подбором трех основных компонентов : фермента, носителя и способа их совмещения и связывания. Иммобилизация протеолитических ферментов с целью создания перевязочных средств и раневых покрытий может быть осуществлена на различных видах готовых волокнистых материалов (как на немодифицированных, так и на модифицированных), а также на стадии их формирования путем включения фермента в структуру волокнистого полимерного материала или пленки.

Долгое время не был ясен вопрос о необходимости прочной фиксации фермента на полимерном носителе. Как было уже сказано, антимикробные вещества проявляют активность только в случае присоединения их слабыми связями. Ферменты же, имеющие более длинные цепи, даже присоединенные ковалентно, прочно иммобилизованные и лишенные подвижности, принципиально могут проявлять свою активность. В биотехнологических процессах при гетерогенном катализе фермент прочно присоединяют к носителю. Результатами некоторых работ подтверждена целесообразность присоединения ферментов прочными связями и в лечебных повязках. Желательность прочного присоединения фермента к матрице обусловлена тем, что это приводит к повышению их стабильности. Однако тканевые белки – это высокомолекулярный и не всегда растворимый субстрат, контакт с которыми иммобилизованного фермента затруднен. Поэтому при выборе типа связи фермента в повязке нужно искать компромиссное решение, обеспечивающее, с одной стороны, повышение стабильности и пролонгированное действие, а с другой - хороший контакт с субстратом, то есть замедленную диффузию его в рану [11-13].

Вместе с тем в ряде работ отмечено, что иммобилизованные протеазы, *ин витро* в модельных системах сохраняющие активность в течение 5 суток, в реальных ранах быстро инактивируются, и после 6 часов нахож-

дения в ране сам материал, удаленный из раны, уже не проявляет протеолитической активности. Для объяснения ситуации, когда лечебный эффект, проявляющийся в уменьшении сроков лечения ран, есть, а протеолитическая активность у повязки, пробывшей в ране менее суток, практически отсутствует, было высказано предположение, что действие иммобилизованных ферментов в ране обусловлено каскадной активацией ферментов самой раны. Действительно, в отдельных экспериментах было показано увеличение активности тканевых ферментов при использовании повязки с иммобилизованной в ней коллагеназой. Таким образом, иммобилизация фермента должна обеспечить пролонгирование его действия в течение 6-10 часов, которых будет достаточно для последующего существенного ускорения очищения и заживления раны в целом [10] .

Выбор того или иного метода обусловлен назначением биологически активного материала, природой полимера и, в значительной степени, технологическими и экономическими показателями процесса модифицирования. Как правило, применяют препараты, имеющие с полимером общий растворитель или способные образовывать в растворе или расплаве полимера устойчивые суспензии.

Эффективность медико-биологического действия полимерного материала медицинского назначения определяется не столько общим содержанием в нем активного компонента, сколько фармакодинамическими свойствами - изменением его активности во времени в очаге поражения [13]. Скорость выделения из полимерного материала инклюдированного лекарственного вещества зависит от его растворимости в биологических жидкостях организма. Если для включения в структуру химического волокна или пленки используются соединения, легко растворимые в воде, например, белки, встает задача направленного регулирования фармакодинамических свойств материала. В связи с этим необходимо решить вопрос о принципах управления процессом фиксации лекарственного соединения в структуре волокон и пленок, который был изучен на примере протеолитических ферментов и их белкового ингибитора [10-12] .

С целью разработки хирургических средств (пленочных покрытий на рану, дренажей, шовных нитей) для лечения и профилактики гнойных инфекций были получены полимерные пленки и волокна из суспензии протеолитических ферментов в формовочных растворах на основе фторопласта 42 (ФП), совместного водного раствора белка и поливинилового спирта (ПВС), а также из эмульсии раствора белка в растворе триацетата целлюлозы (ТАЦ) в метиленхлориде [10-14].

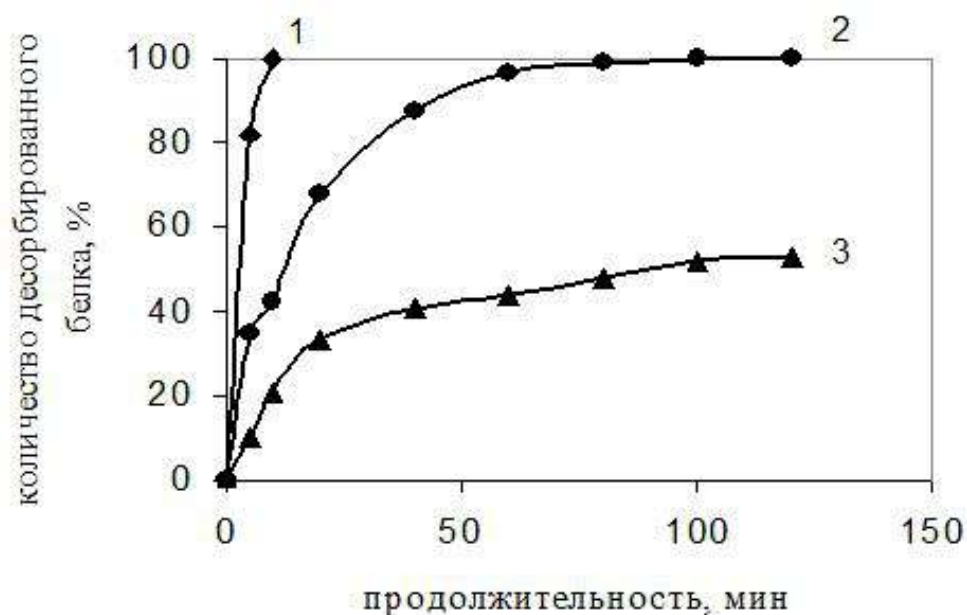
В отсутствие химической связи между белком и носителем выделение фермента из полимерного материала происходит за счет диффузии макромолекул растворившегося белка в окружающую среду из набухшей полимерной системы, а при использовании в качестве носителя водорастворимого полимера по мере его растворения в раневой или модельной

среде. Поэтому регулирование скорости десорбции ферментов может быть осуществлено как за счет изменения условий формирования структуры волокна или пленки, так и за счет использования дополнительных компонентов формовочной композиции, изменяющих кинетические свойства самого диффузанта – белка [10, 14, 15].

Если в качестве носителя фермента медицинского назначения используется водорастворимый полимер, регулирование скорости выделения белка из пленки можно осуществлять путем изменения растворимости или степени набухания полимерного материала. На рис.4.2 и 4.3 показано снижение скорости перехода фермента террилитина и белка, способного ингибировать протеазы - основного панкреатического ингибитора протеаз (ОПИ) в физиологический раствор при увеличении температуры формования пленки и молекулярной массы ПВС [10, 14].

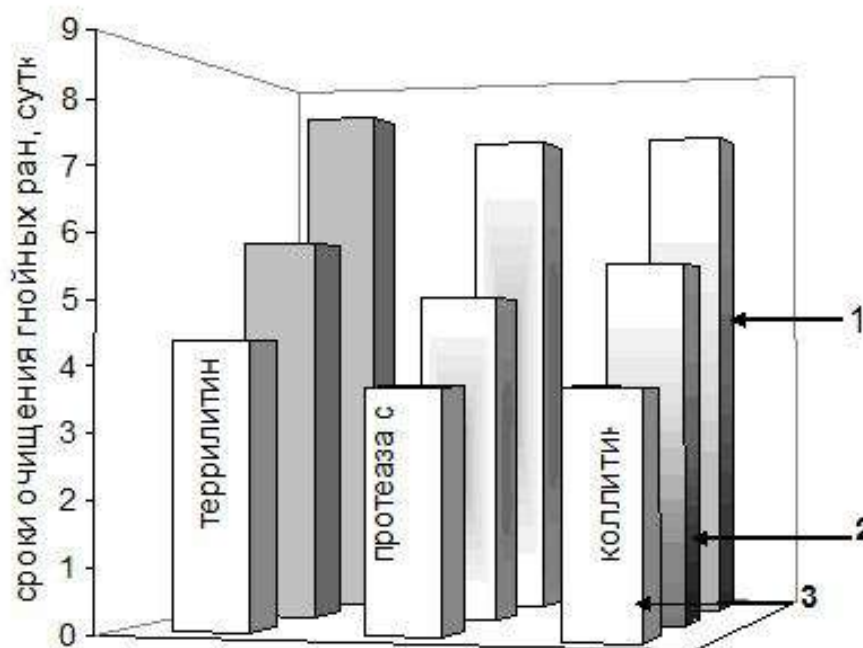
Более заметного изменения диффузионных характеристик иммобилизованной формы фермента можно достичь введением в состав формовочной композиции дополнительного полимера, способного к образованию полиэлектролитных комплексов с макромолекулами белка. В качестве такого полимера нами была использована альгиновая кислота в натриевой форме (АЛГ) (рис.4.2) [10, 14].

При использовании таких пленок существенно сокращается продолжительность очищения ран от гноя (рис. 4.3) [10, 14].



**Рис. 4.2.** Кинетика десорбции белка из ферментсодержащего волокнистого материала в модельную среду. Волокнистый материал обработан композициями, содержащими: 1 – ПВС и протеазу, 2 – ПВС, АЛГ и протеазу, 3 – ПВС, АЛГ, глюконат кальция и протеазу. Гидромуль 100, 1 М NaCl, 37 °С [10]





**Рис. 4.3. Результаты лечения экспериментальных гнойных ран у крыс нативными ферментами и биологически активными пленочными материалами:**  
**1 – лечение нативными ферментами; 2 – лечение пленками, содержащими фермент; 3 – лечение пленками, содержащими фермент и антисептик [14, 15]**

В результате совместных исследований с кафедрой общей хирургии Московской медицинской академии имени И.М.Сеченова были разработаны хирургические материалы на основе волокон и пленок, содержащих включенные в их структуру протеолитические ферменты. Эффективность использования многих из них была показана при лечении экспериментальных ран у животных и проведении клинических испытаний (табл. 4.1).

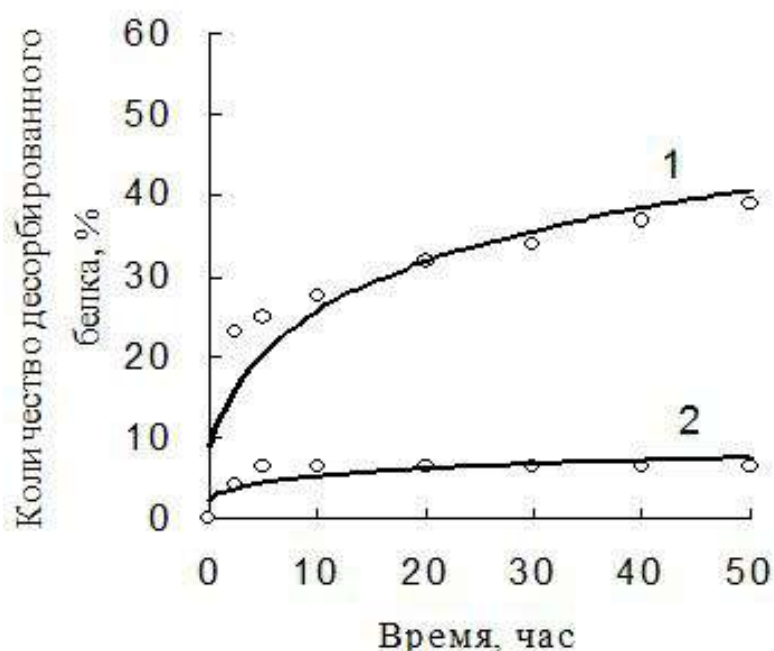
Таблица 4.1

Полимерные материалы для хирургии, содержащие протеолитические ферменты, включенную в их структуру в процессе формования [14, 16-20]

Материал	Назначение
Мембрана из фторопласта, содержащая трипсин	Дренирование гнойных ран
Мембрана из сополилактида, содержащая протеазу С	Лечение ожогов и донорских мест
Мембрана из поливинилового спирта, содержащая террилитин или протеазу С	Лечение гнойных ран на 1-й фазе раневого процесса
Шовный материал из волокна фторлон, содержащего трипсин	Ушивание внешних тканей

Требуемое пролонгирование действия иммобилизованного фермента может быть достигнуто и без прочной фиксации его на полимере носителе химическими связями, а за счет формирования заданной структуры полимерного материала и замедления скорости диффузии фермента в рану. Так, пластификационное вытягивание нитей из фторлона, содержащих трипсин, и повышение плотности их структуры приводит к замедлению скорости диффузии фермента в водные среды, пропорциональному степени вытягивания [21]. Аналогичный эффект был достигнут при увеличении концентрации пленкообразующего полимера в формовочной композиции и повышении температуры формования пленок из поливинилового спирта, приводящих к уменьшению степени набухания ферментсодержащих материалов [15].

Еще более эффективное замедление диффузионных процессов было достигнуто в результате частичного связывания молекул фермента сшивающим реагентом (глутаровым альдегидом) или в поликомплексы с водорастворимыми полиэлектролитами, в частности, с альгинатом натрия. Отметим, что в данных случаях речь идет не о присоединении фермента к волокнистому материалу, а о модифицировании фермента с целью частичного ограничения его подвижности. Из рис.4.4 видно, что из пленки, полученной из формовочного раствора поливинилового спирта, в которой фермент не связан с полимерной матрицей, в течение двух суток выделяется около 50% иммобилизованного фермента (кривая 1). Модификация фермента альгинатом натрия, с которым фермент взаимодействует, приводит к значительному замедлению диффузии фермента в модельную среду (кривая 2) [22].



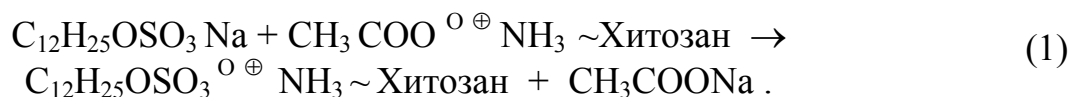
**Рис. 4.4. Кинетика выделения фермента из пленок, полученных из формовочных композиций на основе ПВС (1) и ПВС, содержащего альгинат натрия (2) [22]**

В настоящее время разработаны способы получения волокон и пленок с протеолитической активностью формованием из суспензий протеаз или эмульсий их водных растворов в растворах волокно- и пленкообразующих полимеров (ТАЦ, ВАЦ, ФП), а также совместного раствора фермента и водорастворимого полимера (поливинилового спирта, хитозана, карбоксиметилцеллюлозы). Например, повязка Теральгин, разработанная при участии сотрудников кафедры ТХВ МГТУ, содержит полимерное вещество альгинат натрия и фермент микробного происхождения террилитин. Раневое покрытие Терриплен - пленка из поливинилового спирта, содержащая террилитин. С нашим участием разработаны и шовные материалы с иммобилизованными протеазами, плетеные трубки, используемые для дренажей и протезирования сосудов, турунды, тампоны и другие изделия медицинской техники.

Испытания показали, что вследствие пролонгированного некролитического действия, высокой дренирующей способности разработанные дренажи и покрытия на рану сокращают сроки очищения ран от гнойно-некротических масс в 2-5 раз и в 6 раз уменьшают расход фермента по сравнению с лечением препаратами нативных немодифицированных протеаз [12, 13, 21]. Включение в структуру полимерных пленок и волокон приводило к стабилизации фермента к  $\gamma$ -облучению, что позволило использовать этот метод для стерилизации разработанных материалов [23, 24]. Включение в волокна и пленки ферментов одновременно с антимикробными препаратами позволяет получать материалы с комбинированным некролитическим и антимикробным воздействием на раневой процесс [25].

Применение новых активных ферментов (коллагеназы, коллитина) и перспективных полимеров (биоразрушаемых и нетоксичных) в сочетании с использованием разработанных в настоящее время способов иммобилизации в структуре волокон и пленок позволит достичь еще больших успехов при создании медицинских материалов, в том числе таких,...

И хотя материалы из биodeградируемых *in vivo* полимеров будут рассмотрены в последующих главах, здесь мы рассмотрим новый подход к созданию ферментсодержащего раневого покрытия, который может быть осуществлен только на основе хитозана [26-28]. Дело в том, что хитозан - это полисахарид, содержащий аминогруппы, благодаря чему он обладает слабыми бактерицидными свойствами. Благодаря этим же группам хитозан, в отличие от целлюлозы, растворяется в очень доступном растворителе - растворах кислот, и пленки из него могут быть получены, например, высушиванием уксуснокислых растворов полимера. Но, самое главное, он способен в солевой форме к образованию ионных связей. С целью создания на основе хитозана пленочного перевязочного материала, обладающего высокой сорбционной способностью, сформованные хитозановые пленки в солевой водорастворимой форме были модифицированы присоединением ионными связями ПАВ по схеме (1):



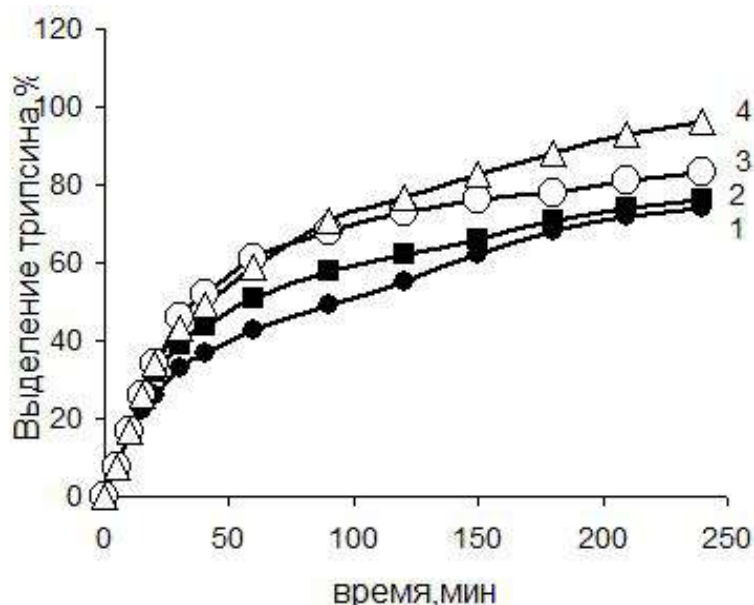
Поскольку ПАВ, присоединенное к поверхности пленки, содержит гидрофобные алкильные группы, то получаемые пленки характеризуются тем, что их внутренний слой представляет собой растворимую солевую форму хитозана, а поверхностный слой, сильно гидрофобизированный, не растворяется в воде. Поэтому модифицированные додецилсульфатными анионами пленки обладают очень высоким ( $> 2000\%$ ) водопоглощением. Модифицированная додецилсульфатом хитозановая пленка характеризуется неожиданно высокой прочностью ( $\sigma_p = 163$  МПа), не уступающей прочности исходной хитозановой, что, возможно, обусловлено “залечиванием” дефектов структуры пленки поверхностно-активным веществом. Описанное свойство модифицированных хитозановых пленок представляет интерес для создания на их основе высококапитывающих и дренирующих медицинских материалов или лечебных повязок типа гидроколлоидных. Повязки на основе хитозана не должны уступать по свойствам резорпору, который используется при операциях на мозге.

В качестве реагента для модифицирования поверхности хитозановой пленки, содержащей протеолитический фермент трипсин, был использован додецилсульфат натрия (ДСН) - мицеллообразующее анионообменное ПАВ, способное к образованию ионных связей с протонированными аминогруппами. В результате модификации на поверхности белоксодержащей хитозановой пленки формируется нерастворимый в воде слой ПАВ-полиэлектrolитного комплекса. Таким образом, модифицированная пленка состоит из нерастворимых в воде поверхностных слоев и внутреннего слоя, в состав которого входят водорастворимые немодифицированные полимеры хитозан и белок, причем часть белка образует с хитозаном полиэлектrolитный комплекс [26,27].

Поверхность модифицированной белоксодержащей пленки представляет собой полупроницаемую мембрану толщиной  $\sim 10$  мкм, которая позволяет воде проникать в пленку. В результате увеличения объема внутреннего слоя поверхностная мембрана растягивается, и выделение белка из пленки ограничивается только размерами полиэлектrolитного комплекса и проницаемостью поверхностной мембраны. Таким образом, набухшая в воде модифицированная пленка представляет собой контейнер, внутри которого находится раствор хитозана и белка. Обработка ДСН позволяет получить пленочный материал, масса которого в изотоническом растворе изменяется на  $4000\%$ . Ни один из известных перевязочных материалов не обладает столь значительной способностью сорбировать и удерживать влагу без потери целостности.

Немодифицированная хитозановая пленка водорастворима, поэтому белок переходит в  $0,9\%$ -ный раствор NaCl уже за 15 минут. Нерастворимая

в воде поверхностная мембрана позволяет макромолекулам белка диффундировать во внешний раствор, но в значительной степени замедляет этот процесс. Как степень набухания, так и скорость выделения белка можно регулировать изменением толщины поверхностного слоя, который при прочих равных условиях зависит от продолжительности обработки пленки раствором ДСН (рис.4.5) [26].



**Рис. 4.5. Кинетика выделения трипсина из хитозановых пленок, поверхность которых модифицирована ДСН в течение 90 (1), 60 (2), 45 (3) и 30 (4) минут [26]**

Высоконабухающий пленочный материал, содержащий трипсин, был испытан для лечения труднозаживающих ран сложной этиологии, так называемых «вяло экссудирующих ран», в отделении пластической микрохирургии Московского научно-исследовательского института онкологии имени П.А.Герцена. Помимо быстрого заживления ран, образовавшихся после удаления опухолей, отмечается гладкая эпителизация под поверхностью пленки и атравматичность последней.

Кроме трипсина для введения в состав хитозановых мембран был использован полуочищенный препарат плацентарного белка  $\alpha$ -фетопротеина, выделенный из человеческой плаценты [28]. Биологически активные хитозановые пленки получали из растворов хитозана или совместных водных. растворов  $\alpha$ -фетопротеина и хитозана путем формирования через щелевую фильеру с последующим испарением растворителя.. Часть пленок подвергали термомодифицированию при 120°C. Эти пленки использовались для адсорбции  $\alpha$ -фетопротеина из 0,004%-го раствора. Другая часть пленок без их перевода в О-форму подвергалась поверхностному модифицированию додецилсульфатом натрия. Степень набухания поверхностно-модифицированных пленок составляла 2800%, а термомодифици-

рованных пленок в О-форме – 500%. Изучение кинетики выделения белка из полученных пленок показало, что из термомодифицированных пленок белок выделяется за 7 часов, а из пленок, модифицированных додецил-сульфатом натрия быстрее (в течение 4-х часов). По этой причине, а также из-за отсутствия токсичных реагентов при получении термомодифицированных пленок, именно эти материалы были использованы для дальнейших исследований.

Пленки из хитозана, содержащие  $\alpha$ -фетопротеин, были использованы в сравнительных исследованиях при лечении экспериментальных ран у крыс на кафедре биохимии Астраханской государственной медицинской академии. В качестве сравнения (1 группа) использовали традиционное лечение (марлевые повязки с «Левомиколом»); во 2 группе (опытной) животным на рану накладывали хитозановые пленки, содержащие препарат  $\alpha$ -фетопротеин; 3 группа – интактные животные. Полученные результаты приведены в табл. 3.

На 8 – 10 сутки в 1-й группе положительная динамика практически не отмечалась, площадь поражения оставалась без изменений. Во 2-й группе произошло практически полное отторжение струпа и эпителизация ран с хорошим косметическим эффектом (табл. 4.2) [28].

Таблица 4.2

Результаты клинической оценки течения раневого процесса [28]

Время после начала эксперимента, сутки	Изменение площади струпа (см <sup>2</sup> )		
	1 группа	2 группа	P
3	0,5±0	0,5±0	
6	0,380±0,022	0,259±0,015	P <sub>1/2</sub> <0,001
8	0,255±0,013	0,148±0,013	P <sub>1/2</sub> <0,001
9	0,255±0,013	0,071±0,016	P <sub>1/2</sub> <0,001
10	0,255±0,013	0,051±0,032 (4 мышки)	P <sub>1/2</sub> <0,001
12	0,135±0,03	0,03 (2 мышки)	P <sub>1/2</sub> <0,001
15	0,04 (2 мышки)	-	

Использование хитозановой пленки с полуочищенным АФП обеспечивает достоверное ускорение процесса репарации кожи на 48% по сравнению с 1-й группой. В целом проведенное исследование показало преимущество применения биологически активных хитозановых пленочных повязок перед традиционным способом лечения ожогов.

Таким образом, с использованием предложенного подхода, заключающегося в формировании на поверхности хитозановой белоксодержа-

щей пленки поверхностной мембраны, ограничивающей ее растворение, был получен материал со следующими свойствами :

1. Высокая сорбционная способность.
2. Способность удерживать до 4000% влаги без потери целостности.
3. Антиадгезионные свойства.
4. Контролируемое выделение белка.

В целом ряде случаев медицина нуждается в повязках, обладающих кровеостанавливающими (гемостатическими) свойствами. Принцип создания таких повязок и средств основан на введении в волокнистые материалы гемостатиков, в основном, ионов Са. Ионы Са могут быть присоединены к карбоксилсодержащим волокнам. Наиболее известным из отечественных гемостатических средств является вискозная марля, частично окисленная двуокисью азота до монокарбоксилцеллюлозы, ионогенные группы которой переведены в Са-соль [5].

Таким образом, наиболее перспективные направления исследований в области перевязочных материалов - создание комбинированных повязок с направленным комплексным действием на раневые процессы. Новыми и наиболее перспективными являются повязки на основе нетоксичных и биоразрушаемых полимеров. Иммобилизация протеолитических ферментов в волокнистых и пленочных материалах с целью ускорения некролитических процессов и сокращения сроков заживления может быть осуществлена путем введения их в формовочные растворы и композиции (суспензии, эмульсии), в том числе с проведением дополнительного модифицирования. Включение ферментов в пленки позволяет наиболее простым способом получать материалы с комплексным действием, необходимые для лечения ран различной этиологии (плоские гнойные, стреляные, глубокие проникающие и ожоги).

#### **4.3. Закономерности получения и взаимосвязь строения и свойств перевязочных целлюлозных волокнистых материалов**

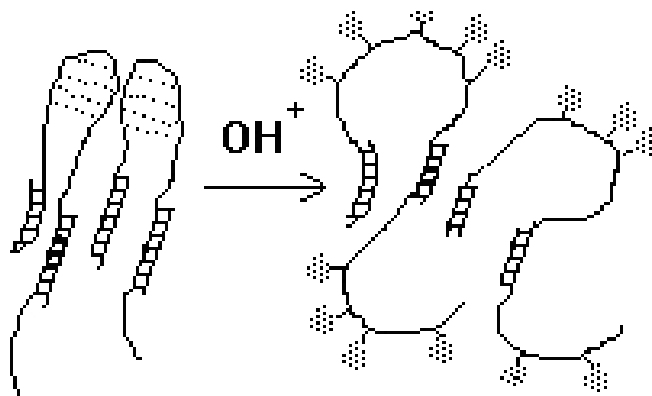
Одним из важных направлений химии и технологии полимеров медико-биологического назначения является создание перевязочных средств нового поколения, обладающих специальными свойствами, соответствующими назначению материалов. Ранее было отмечено, что в зависимости от раневой этиологии (происхождения и характера раны) и индивидуального течения раневого процесса требуются полимерные покрытия как с высоким, так и с низким уровнем сорбирующей способности, биodeградируемые и, напротив, стабильные в условиях *in vivo*, просто изолирующие рану от внешней среды или оказывающие лечебное действие.

Преимуществом волокнистых форм перевязочных материалов с некролитическим действием, полученных химическим присоединением ферментов и других лекарственных веществ к готовым материалам, являются

хорошие сорбционные свойства, возможность моделировать материал в виде тампонов, турунд.

В настоящее время в нашей стране для изготовления перевязочных средств используются в основном целлюлозные волокнистые материалы (ЦВМ), поэтому большое значение имеет разработка методов иммобилизации ферментов на модифицированных прививочной полимеризацией ЦВМ, содержащих ионизирующиеся группы.

При получении ферментсодержащих материалов в результате интерполимерной реакции между ионизованными разноименнозаряженными группами модифицированного ЦВМ и фермента происходит образование полиэлектролитного комплекса (ПЭК), стабилизированного как системой ионных связей, так и неионными взаимодействиями, например, водородными и гидрофобными (рис. 4.6).



**Рис. 4.6. Модель структуры ПЭК, содержащего водородные связи и ионные связи**

В настоящее время изучены интерполимерные реакции между привитыми сополимерами целлюлозы различного строения и ферментами, разрешенными для применения в медицинской практике: протеолитическими ферментами трипсином (ТР), террилитином (ТЕР), коллитином (КОЛ), протеазой-С (ПР), а также бактериолитическим ферментом лизоцимом (ЛИЗ), который при создании перевязочных материалов целесообразно использовать совместно с протеазами [29-35]. Среди указанных ферментов наиболее эффективными являются протеаза-С и коллитин, которые в отличие от трипсина и террилитина обладают еще и коллагенолитической<sup>1</sup> активностью. В качестве носителей использованы привитые сополимеры целлюлозы с:

- полиакриловой кислотой (ПАК-Н) и ее натриевой солью (ПАК-Na);
- полиметакриловой кислотой (ПМАК-Н) и ее солью (ПМАК- Na);
- полиакриловой кислотой и N,N-метилден-бис-акриламидом (ПМБАА);

<sup>1</sup> То есть способностью катализировать гидролиз белка кожи - коллагена.



- полидиметилдиаллиламмонийхлоридом (ПДАХ);
- политриметиламмонийэтилметакрилатметилсульфатом (ПТМАМС).

Результаты проведенных исследований показывают, что основными факторами, влияющими на состав образующихся ПЭК, активность и другие свойства иммобилизованных ферментов, являются строение полимерной матрицы (количество привитого к целлюлозе полимера, тип ионизирующей группы, наличие в привитых цепях гидрофобных заместителей и сшивок, конформация привитых цепей), степень ассоциации макромолекул ферментов, зависящая, в свою очередь, от строения и концентрации фермента в растворе, использованном для обработки ЦВМ, pH раствора фермента и продолжительности обработки [29-31]. В [34, 35] показано, что обработка привитого сополимера целлюлозы и ПАК в виде волокна растворами протеолитических ферментов трипсина и террилитина с концентрацией 0,1-5,0 мг/мл в течение 1-3 час обеспечивает получение материалов, содержащих 0,2 - 0,4 % (2-4 мг/г ЦВМ) химически связанного фермента и проявляющего протеолитическую активность до 0,4-0,7 Е/г ЦВМ.

Как было показано, иммобилизация позволяет повысить стабильность ферментных препаратов к воздействию повышенной температуры и компонентов раневого экссудата, что объясняется прочным связыванием отдельных макромолекул белка с полимером-носителем. Стабильность иммобилизованных ферментов, охарактеризованная величинами константы скорости инактивации фермента ( $K_{эф}$ ), существенно зависит от типа волокнистого материала и условий иммобилизации ферментов [34]. Так, при преимущественном снижении  $K_{эф}$ , то есть повышении стабильности иммобилизованных ферментов увеличение концентрации фермента в исходном растворе, а также уменьшение продолжительности иммобилизации в ряде случаев приводят к существенному повышению  $K_{эф}$  и ухудшению стабильности ферментов. Снижение стабильности иммобилизованных в таких условиях ферментов объясняется наличием в исходном растворе ассоциатов макромолекул ферментов, что в условиях кратковременной обработки исключает возможность прочного связывания с полимером-носителем отдельных макромолекул белка. Стабильность ферментов, иммобилизованных на привитых сополимерах целлюлозы и ПАК, возрастает также при переходе к Na- соли сополимера и при увеличении ионообменной емкости, поскольку в этом случае между ферментом и полимером образуется ПЭК, стабилизированный большим числом ионных связей. Разной степенью ассоциации макромолекул фермента в растворах различной концентрации может объясняться и изменение других физико-химических свойств иммобилизованного фермента (оптимумы pH и температуры) при варьировании содержания белка в растворе, используемом для обработки ЦВМ [35].

Иммобилизация протеолитических ферментов за счет образования ПЭК с полимером-носителем приводит к стабилизации ферментов не

только к действию модельной жидкой среды, но и такого сильного инактивирующего реагента, как мочевины. Так, после 24 часов воздействия концентрированного (5 М) раствора мочевины при 20°C, когда нативные ферменты теряют 90% исходной активности, активность иммобилизованных ферментов практически не изменяется. Установлено также, что после кратковременной (3 с) пропитки материалов, содержащих иммобилизованные протеолитические ферменты, концентрированным раствором мочевины, отжима и сушки активность иммобилизованных ферментов практически не снижалась [35] .

В аналогичных условиях могут быть получены ЦВМ, содержащие одновременно протеолитические ферменты и антимикробные вещества - фурагин, диоксин, декаметоксин, гентамицин сульфат (ГМС), хлоргексидин биглюконат (ХГБГ) и др. Показано, что в результате обработки Ц-пр-ПАК-ТР растворами гентамицинсульфата или хлоргексидин биглюконата (табл. 4.3), молекулы которых содержат несколько основных групп, могут быть получены материалы с большим количеством антимикробного вещества, чем при обработке немодифицированного ЦВМ [34].

Таблица 4.3

Протеолитическая активность и антимикробные свойства материалов на основе Ц-пр-ПАК(Н), содержащих совместно иммобилизованные протеолитический фермент и антимикробное вещество – ХГБГ [34]

Фермент	Содержание ХГБГ, %	Протеолитическая активность, ТЕ/г *	Зоны задержки роста микроорганизмов, мм от края образца
ТЕР	не определено	0,20 / 0,19	5
		0,20 / 0,19	5
ТР	2,0	0,20 / 0,20	5
	3,0	0,20 / 0,20	5
ПР	2,3	0,15 / 0,13	4
	2,7	0,15 / 0,13	5
КОЛ	2,4	0,23 / 0,19	4
	2,7	0,23 / 0,18	5

\* В числителе - до обработки, в знаменателе - после обработки ХГБГ

Это обусловлено тем, что хлоргексидин биглюконат и гентамицин сульфат даже за время кратковременной пропитки ферментсодержащего ЦВМ сорбируются из раствора на кислотных группах привитого к целлюлозе полимера, иммобилизованного фермента или образуют дополнительные связи между макромолекулами - компонентами ПЭК. В пользу последнего варианта свидетельствует значительное (~ на 30 %) снижение  $K_{эф}$  скорости инактивации иммобилизованных протеаз после введения в ферментсодержащий целлюлозный волокнистый материал хлоргексидин биглюконата или гентамицин сульфата. Данные табл. 4.3 показывают, что об-

работка хлоргексидин биглюконатом не приводит к существенному снижению протеолитической активности ЦВМ.

При одновременной иммобилизации трипсина и лизоцима зависимости количества химически связанного белка, протеолитической и бактериолитической активности от продолжительности реакции имеют экстремальный характер, и максимально достигнутая степень полезного использования белка (60 %) при этом значительно ниже, чем при раздельной обработке Ц-пр-ПАК-На растворами трипсина и лизоцима тех же концентраций [34]. Интересно, что при увеличении продолжительности реакции снижается и степень полезного использования белка. Уменьшение бактериолитической активности при увеличении продолжительности обработки обусловлено как частичной десорбцией лизоцима, так и его гидролизом, поскольку лизоцим является субстратом для трипсина в фермент-субстратном комплексе ТР-ЛИЗ. Аналогичные закономерности наблюдались и при совместной иммобилизации протеазы-С (или коллитина) с лизоцимом [34].

Одним из основных требований, предъявляемых к биологически активным полимерным материалам медицинского назначения, является сохранение ими специальных свойств при стерилизации и последующем хранении [24]. Для стерилизации ферментсодержащих материалов наиболее целесообразно использовать  $\gamma$ -облучение. Иммобилизация трипсина, терилитина, коллитина и протеазы-С резко повышает их устойчивость к  $\gamma$ -облучению. При дозе облучения 25 кГр иммобилизованные ферменты сохраняют 95-100 % протеолитической активности (табл. 4.4) в отличие от нативных ферментов, активность которых снижается на 20 - 50 %.

Таблица 4.4

Влияние  $\gamma$ -стерилизации (25 кГр) на активность иммобилизованных ферментов [24]

Фермент	Активность после $\gamma$ -стерилизации, % от исходной		
	протеолитическая	коллагенолитическая	бактериолитическая
ТЕР	100	-	-
ТР	100	-	-
КОЛ	97	100	-
ПР	95	80	-
ЛИЗ*	-	-	35
ТР и ЛИЗ	100	-	90
КОЛ и ЛИЗ	97	100	70
ПР и ЛИЗ	96	80	80

\* Нативный лизин после  $\gamma$ -стерилизации полностью утрачивает бактериолитическую активность

Изучение спектров ЭПР облученных нативных и иммобилизованных ферментов позволило сделать вывод, что увеличение стабильности ферментов обусловлено эстафетной передачей радикалов с макромолекулы белка на полимер-носитель с последующей рекомбинацией макрорадикалов [23].

После двух лет хранения при 4°C активность стерилизованного  $\gamma$ -облучением иммобилизованного террилитина снизилась на 12%, а трипсина практически не изменилась, в то время как нативный террилитин в аналогичных условиях не потерял активность, а активность трипсина, напротив, снизилась на 45%. Разный характер инактивации террилитина и трипсина при стерилизации и последующем хранении объясняется образованием радикалов на различных по важности для ферментативного катализа остатках аминокислот [36].

Значительный интерес представляет получение волокнистых материалов с комбинированным биологическим действием путем образования ПЭК, включающих фермент и БАВ другого типа. Такие материалы получены не только на основе целлюлозного, но и полиэфирного волокнистого материала, который также применяется для изготовления изделий медицинского назначения. В качестве компонентов полимерной композиции, применявшейся для обработки волокнистого материала использованы, например, пленкообразующий полимер ПВС и полиэлектролиты альгинат натрия и карбоксиметилцеллюлоза, а также глюконат кальция, способный дополнительно стабилизировать образующиеся ПЭК [37, 38]. Все указанные компоненты разрешены для применения в медицинской практике. Данные, приведенные в табл. 4.5, показывают, что при использовании полиэфирных материалов относительная активность иммобилизованных ферментов и их стабильность при стерилизации выше, чем при иммобилизации на ЦВМ.

Таблица 4.5

Влияние типа волокнистого материала и состава полимерной композиции на свойства иммобилизованной протеазы [37]

Волокнистый материал	Состав* полимерной композиции, %				Относительная активность ПР, %	Содержание стабильной формы, %
	АЛГ	КМЦ	ГК	фурагин		
ЦВМ	0,25	-	-	0,2	26	2
“ - “	0,25	-	0,04	0,2	17	5
“ - “	-	0,25	-	0,2	18	5
“ - “	-	0,25	0,04	0,2	16	8
полиэфирный	0,25	-	0,04	0,2	45	8
материал	-	0,25	-	0,2	38	7
	-	0,25	0,04	0,2	43	10

\* Содержание ПВС - 1,0%, ПР - 0,5 %.

Следует отметить, что при получении волокнистых материалов с комбинированным биологическим действием по указанному способу на основе немодифицированных волокнистых материалов иммобилизованный фермент содержит две формы, существенно различающиеся по стабильности. При этом  $K_{эф}$  скорости инактивации лабильной формы соизмерима с  $K_{эф}$  скорости инактивации ферментов, иммобилизованных на привитых сополимерах целлюлозы, а  $K_{эф}$  скорости инактивации стабильной формы - на порядок ниже. В то же время стабильность к стерилизации у протеолитических ферментов, иммобилизованных на привитых сополимерах целлюлозы, существенно выше, чем у ферментов, включенных в ПЭК, образующихся на немодифицированных волокнах [37]. Введение в полимерную композицию сшивающего реагента вследствие образования связей в ПЭК приводит к увеличению содержания стабильной формы иммобилизованного фермента снижению,  $K_{эф}$  скорости инактивации ферментов, скорости десорбции фермента и антимикробного вещества из материала, а также к повышению стабильности фермента к стерилизации [38]. Использование в качестве антимикробного вещества хлоргексидин биглюконата или гентамицин сульфата вместо фурагина по той же причине повышает содержание стабильной формы иммобилизованного фермента. Антимикробная активность волокнистых материалов с комбинированным действием, полученных на основе привитых сополимеров целлюлозы и немодифицированных ЦВМ, практически не изменяется после стерилизации и при последующем хранении.

Медико-биологические испытания показали, что использование разработанных материалов приводит к значительному сокращению сроков очищения и заживления гнойных ран, а также сроков очищения ожоговых ран. При использовании однослойных волокнистых материалов с комбинированным биологическим действием, содержащих фермент и антимикробное вещество, сроки очищения и заживления ран меньше, чем при использовании материалов, содержащих только протеолитический фермент [38].

Эффективным является также использование для лечения двухслойных материалов, в которых прилегающий к ране слой содержит иммобилизованный протеолитический фермент, а второй слой обладает высокими сорбционными свойствами и антимикробным действием (табл. 4.6). Использование таких средств с комбинированным и пролонгированным действием позволяет значительно сократить расход дорогих и дефицитных лекарственных веществ на курс лечения [39].

Иммобилизация протеолитических ферментов в структуре пленок из биосовместимых полимеров в процессе формования, о которой говорилось выше, является одним из эффективных способов получения перевязочных материалов. Этот способ не требует химического модифицирования полимера-носителя, в структуру полимерного материала может быть введено

большое количество фермента, а также иммобилизовано БАВ другого типа. Варьирование состава формовочной композиции и условий формования позволяет регулировать структуру полимерного материала и свойства иммобилизованного фермента. Необходимо, однако, учитывать, что в процессе приготовления формовочного раствора (композиции) и формования пленок возможна инактивация ферментов. Степень инактивации при прочих равных условиях существенно зависит от структуры макромолекулы фермента, строения его активного центра, а также степени очистки фермента.

Таблица 4.6

Результаты лечения экспериментальных гнойных ран у крыс двухслойными волокнистыми материалами, содержащими иммобилизованные протеолитические ферменты и ХГБГ [39]

Материал		Содержание ХГБГ в	Сроки, сутки	
прилегающий к ране слой	сорбирующий слой	сорбирующем слое, %	очищения	заживления
Ц-пр-ПАК-ТЕР	нетканый, вязкозный	1	4,5	14,4
Ц-пр-ПАК-ТЕР	“ - “	-	6,0	17,3
ЦВМ без фермента	“ - “	-	7,8	17,8
Ц-пр-ПАК-ТЕР	УВМ -1 **	1	2,1	11,6
Ц-пр-ПАК-ТЕР	“ - “	-	2,6	12,3
ЦВМ без фермента	“ - “	-	5,1	17,4
Ц-пр-ПАК-ТЕР	УВМ -2 * **	1	1,5	10,5
Ц-пр-ПАК-ТЕР	“ - “	-	2,0	11,5
ЦВМ без фермента	“ - “	-	3,4	14,2
ЦВМ без фермента	-	-	11,6	23,7

\*\* Нетканый углеродный волокнистый материал с сорбционной емкостью по иоду 10%.

\*\*\* Нетканый углеродный волокнистый материал с сорбционной емкостью по иоду 90%.

Включение в состав формовочной композиции полисахаридов с ионными группами изменяет свойства иммобилизованных ферментов. При модификации и иммобилизации не все макромолекулы фермента подвергаются абсолютно одинаковому воздействию, поэтому иммобилизованные в структуре пленок ферменты содержат формы, различающиеся по стабильности. Модификация в ряде случаев приводит к значительной стабилизации ферментов.

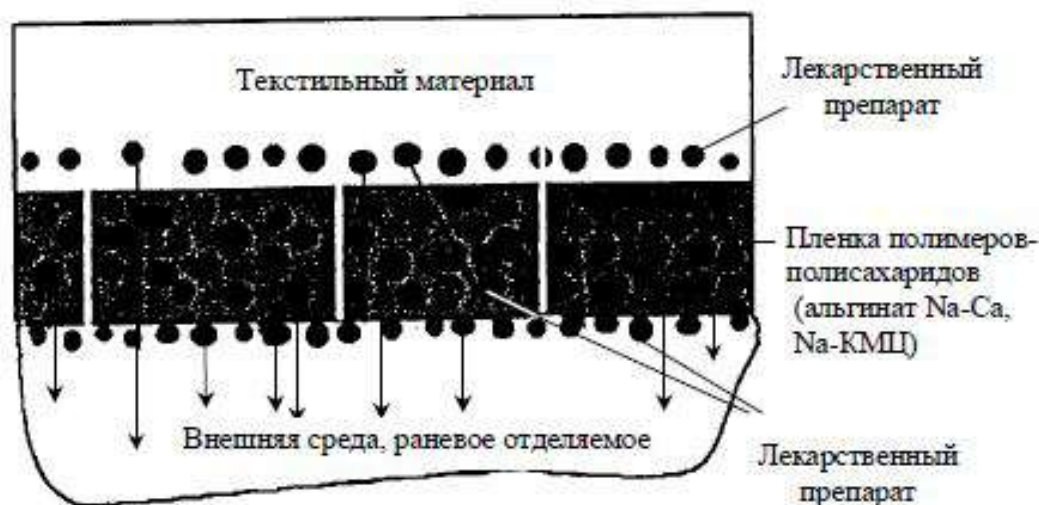
С использованием традиционных технологий, которые применяют при отделке тканей: технологии печати и аппретирования созданы в широ-

ком ассортименте лечебные текстильные изделия пролонгированного (до 2.3 сут.) действия с использованием лекарственных препаратов - салфетки «Колетекс» [40-43] для различных областей медицины, в том числе для лечения ран. Полимерную композицию, наносимую на текстильный материал, в данном случае можно сравнить с печатной краской: полимер является загустителем, в который по аналогии с красителем введена субстанция лекарства. Разумеется, специфика применения создаваемого лечебного изделия выставляет особые требования ко всем компонентам как в отношении пригодности их для процесса печатания, так и с точки зрения допустимости их применения в медицине. Текстильный материал должен быть нетоксичен, атравматичен, обладать сорбционной способностью и т.д. С учетом всех требований в качестве основы салфетки были выбраны нетканые хлопко-вискозное полотно, трикотажное полотно из хлопковых и полиэфирных нитей и нетканое полотно из полипропиленовых волокон («Спанбонд»), для полимерной композиции - альгинат натрия и кальция и натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы. Выбор альгинатов обусловлен тем, что они широко применяются как загустители при печатании тканей и обладают кровоостанавливающими, сорбционными и другими лечебными свойствами [41] и не теряют своих свойств при стерилизации  $\gamma$ -облучением [43].

Предложенная авторами технология не ограничивает выбор лекарств и биологически активных веществ, используемых для получения лечебного материала, в частности можно использовать природные продукты пчеловодства. В композицию может быть введен как мало-, так и хорошо растворимый лекарственный препарат в любой концентрации, выбор которой определяется медицинскими показаниями и связан с разрешенными суточной и ударной дозами, сроком службы материала [40]. В наносимой на материал композиции загуститель играет роль «депо» для диспергированного лекарственного препарата, а текстильный материал, в объеме и на поверхности которого распределяется композиция, выполняет роль «двойного депо» для лекарства. Именно этот эффект «двойного депо», создаваемого при выбранной технологии нанесения, обуславливает пролонгацию массопереноса лекарственного препарата из лечебного текстильного материала (аппликации, салфетки) во внешнюю среду (рану). Схематично распределение лекарственного препарата на текстильном материале представлено на рис. 4.7.

Особо важная проблема, возникающая при использовании перевязочных материалов, их крепление на теле пациента. Эта проблема была решена авторами [40,41] путем создания полимерной композиции, включающей разрешенные к применению в медицине и совместимые между собой полимеры, каждый из которых выполняет свою функцию: в состав композиции введены гидрофильные полисахариды, обеспечивающие мас-

соперенос лекарственного препарата, а для достижения необходимой адгезии к коже - гидрофобная композиция из акриловых сополимеров.



**Рис. 4.7. Схема распределения лекарственного препарата и полимера-загустителя на текстильном материале после печати полимерной композиции и сушки**

С использованием описанной технологии и биологически активных веществ с разнообразным биологическим действием был получен ассортимент лечебных средств для лечения ран и трофических язв, ожогов 2-ой и 3-ей степени, опухолей головы, молочной железы, мочеполовой сферы, использования в лучевой терапии в онкологии и других целях [40,42].

Таким образом, предложенная технология, опирающаяся на традиционные способы отделки тканей, позволяет получать лечебные текстильные изделия (салфетки и пластыри) с различным набором иммобилизованных лекарственных средств, предназначенных для разных областей медицины.

Волокнистые и пленочные материалы традиционно широко применяются в медицинской практике для самых разнообразных целей. Однако благодаря прогрессу в области полимерной науки и исследованиям, проведенным в последние 2-3 десятилетия, существенно расширился ассортимент как самих изделий, так и волокон, используемых для их изготовления. Химические волокна все в большей степени успешно конкурируют с натуральными, а иногда и существенно превосходят их по ряду показателей (прочность, эластичность, инертность и др.).

Принципиально новым этапом является создание и широкое внедрение перевязочных средств, шовных материалов, комплектов белья и одежды с выраженными и устойчивыми лечебными свойствами. Устойчивость свойств достигается, главным образом, за счет химического присоединения низкомолекулярных биологически активных соединений к волокнистым и пленочным материалам. Выбор типа волокнистого материала и способа его модифицирования необходимо делать с учетом назначения и



требований, предъявляемые к материалам. Важным и очень дорогостоящим и длительным процессом является проведение медико-биологических испытаний новых материалов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Савельев В.С.* Хирургические инфекции кожи и мягких тканей. Российские национальные рекомендации. – М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2009. – 89 с.
2. Раны и раневая инфекция: руководство для врачей. 2-е изд. / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – 529 с.
3. *Адамян А. А., Глянцев С. П.* Пролонгированная многокомпонентная энзимотерапия–развивающееся направление в комплексном лечении гнойных ран: Научный обзор // Хирургия. – 1992. – №. 7-8. – С. 105-108.
4. *Адамян А., Добыш Л.Е., Килимчук А., Шандурено И.А., Чекмарева И.* Разработка новых биологически активных перевязочных средств и методология их применения // Хирургия. – 2004. – №12. – С. 10-14.
5. *Вихорева Г.А., Скокова И.Ф., Кильдеева Н.Р.* Волокнистые и пленочные материалы для медицины и биотехнологии. – М: МГТУ им.А.Н.Косыгина, 2005. – 56 с.
6. *Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Алешина Е.Ю., Гальбрайх Л.С.* Поливинилспиртовые пленочные материалы, содержащие биополимеры: получение и свойства // Хим. волокна. – 2000. – №5. – С. 39-43.
7. *Юданова Т.Н. Алешина Е.Ю. Оболонкова Е.С. Дубовик И.И. Гальбрайх Л.С.* Влияние полимерных биологически активных соединений на надмолекулярную структуру поливинилспиртовых пленок // Хим. волокна. – 2004. – №1. – С. 54-57.
8. *Решетов И.В. Маторин О.В. Юданова Т.Н. Морозов Д.С.* Исследование репаративных возможностей пленочных покрытий на основе поливинилового спирта в эксперименте // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2004. – №1. – С. 41-45.
9. *Решетов И.В., Юданова Т.Н.* Современные раневые покрытия: получение и свойства (Обзор) // Химико-фарм. журнал. – 2006. – Т.40. – №2. – С. 24-31.
10. *Кильдеева Н.Р., Гальбрайх Л.С.* Управление процессом фиксации белка в структуре химических волокон и пленок // Хим. волокна. – 1999. – №4. – С.29-32.
11. *Юданова Т.Н., Скокова И.Ф. Богданова И.В. Петрова Н.Е. Гальбрайх Л.С.* Пленочные материалы с контролируемым выделением биологически активных веществ // Хим. волокна. – 1998. – №5. – С. 44-48.
12. *Кильдеева Н.Р. Юданова Т.Н., Решетов И.В.* Ферментсодержащие мембраны и волокнистые материалы для использования в хирургии // Тру-

ды Всеросс. конф. "Проблемы медицинской энзимологии". – М., 2002. – С.117.

13. *Решетов И.В., Юданова Т.Н.* Современные раневые покрытия: получение и свойства (Обзор). 2. Раневые покрытия с иммобилизованными протеолитическими ферментами // Химико-фарм. журнал. – 2006. – Т.40. – №8 – С. 24-28.

14. *Кильдеева Н.Р.* Научные основы получения волокнистых и пленочных биокатализаторов из белоксодержащих формовочных дисперсий: Дис. ... докт. хим. наук – М.: МГТА им. А. Н. Косыгина, 1998. – 277 с.

15. *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.

16. АС № 700138 СССР, МПК А61М 27/00, А61L 15/01, Дренирующий материал / Кильдеева Н.Р., Вирник А.Д., Толстых П.И., Василькова З.Ф., Гостищев В.К. – №2551196/28-13; заявл. 07.12.1977; опубл. 30.11.1979, Бюл. № 44.

17. АС № 835140 СССР. Полимерная композиция / Гостищев В.К., Толстых П.И., Кильдеева Н.Р., Васильева З.Ф., Роговин З.А., Вирник. – 1981.

18. АС № 933797 СССР. Композиция для очищения ран от гноя / Роговин З.А., Толстых П.И., Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Василькова З.Ф. – 1982.

19. АС № 978863 СССР, МПК А61К 37/547. Дренирующая композиция / Роговин З.А., Толстых П.И., Вирник А.Д., Кильдеева Н.Р., Василькова З.Ф., Гостищев В.К., – №2609474/28-13; заявл. 28.04.1978; опубл. 07.12.1982, Бюл. №45.

20. АС № 1047177 СССР. Полимерная композиция для лечения ран / Кильдеева Н.Р., Ларионова Н.И., Вирник А.Д., Хомяков К.П., Гостищев В.К., Василькова З.Ф. – заявл. 08.06.1983; опубл. 02.04.1982.

21. *Толстых П.И., Гостищев В.К., Казанская Н.Ф., Ларионова Н.И., Василькова З.Ф., Кильдеева Н.Р., Сахаров И.Ю.* Применение иммобилизованных ферментов и их производных ингибиторов в хирургии // Хирургия. – 1983. – №6. – С. 94-96.

22. *Вирник А.Д., Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Иванова М.В.* Интерполиэлектrolитная реакция – метод получения ферментсодержащих волокнистых материалов с регулируемым составом и свойствами // Текстильная химия. – 1994. – №1. – С. 5-20.

23. *Скокова И.Ф., Довбий Е.В., Вирник А.Д.* Стабильность ферментсодержащих волокнистых материалов при хранении после гамма-стерилизации // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1991. – Т.34. – №7. – С. 100-103.

24. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Довбий Е.В., Калашник А.Т. Исследование стабильности террилитина, химически связанного с полимером, к действию  $\gamma$ -облучения // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1987. – Т.30. – №1. – С. 117-118.

25. Решетов И.В. Юданова Т.Н. Маторин О.В. Морозов Д.С. Пленочное покрытие с комплексным биологическим действием для лечения ран // Химико-фарм. журнал. – 2004. – №7. – С. 41-43.

26. Кильдеева Н.Р., Бабак В.Г., Вихорева Г.А., Гальбрайт Л.С. Новый подход к созданию высоконабухающих перевязочных средств // Вестник МГУ(Химия). – 2000. – №6. – С. 423-425.

27. Babak V., Merkovich E., Kildeeva N., Rinaudo M. Formation of enzyme delivery systems from chitosan-surfactant physical gel complexes // Chitin Enzymology (Edit.R.A.A.Muzzarelli) – 2001. – P. 591-594.

28. Никулина Д.М., Вихорева Г.А., Перминов П.А., Петрова О.В., Лужнова С.А., Самсонов А.В. Исследование биологического действия хитозановых пленок, содержащих альфа-фетапротейн Матер. // V Междунар. конф. «Современные подходы к разработке и клиническому применению эффективных перевязочных средств шовных материалов и полимерных имплантатов». – М., 2006 – С.61-62.

29. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Власов Л.Г., Вирник А.Д. Получение модифицированного целлюлозного волокнистого материала, содержащего иммобилизованный протеолитический фермент террилитин // Известия вузов. Технология текстильной пром-сти. – 1986. – №3. – С.75-77.

30. Толстых П.И., Гостищев В.К., Ханин А.Г., Юсупов Г.А., Хуришудян А.Г. Экспериментальное обоснование применения террилитина, иммобилизованного на волокнистых целлюлозных материалах, для лечения гнойных ран в клинике // Журнал экспериментальной и клинической медицины АН Армянской ССР. – 1987. – Т.27. – №4. – С. 340-346.

31. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Вирник А.Д. Исследование свойств ферментсодержащих волокнистых материалов медицинского назначения // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1992. – Т.35. – №9. – С. 95-99.

32. Юданова Т.Н., Кукушкина Н.Н., Скокова И.Ф., Вирник А.Д. Получение альбуминсодержащего целлюлозного волокнистого материала // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1990. – Т.33. – №1. – С. 107-110.

33. Virnik A.D., Skokova I.F., Yudanov T.N., Khomyakov K.P., Kildeeva N.R., Trusova S.P., Vysotskya E.P. Development of bandage materials based on natural and synthetic polymers containing immobilized enzymes // Russian Biochemistry and Biotechnology. – 1991. – V.1. – № 2. – P. 45.

34. Вирник А.Д., Скокова И.Ф. Юданова Т.Н. Разработка волокнистых материалов с комбинированным биологическим действием на основе

полиэлектролитных комплексов // Химические волокна. – 1995. – №5. – С. 10-21.

35. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Вирник А.Д. Исследование иммобилизации протеолитических ферментов на привитых сополимерах целлюлозы различного строения // Прикладная биохимия и микробиология. – 1997. – Т.33. – №1. – С. 38-42.

36. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Довбий Е.В., Мазий Г.А., Калашник А.Т., Вирник А.Д. Действие гамма-облучения на террилитин, иммобилизованный на целлюлозных волокнистых материалах // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – Т.33. – №8. – С. 578-581.

37. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Бочкарева О.Н., Гальбрайх Л.С. Фармакокинетические свойства волокнистых материалов, модифицированных соиммобилизацией биологически активных веществ различного типа // Хим. волокна. – 2001. – №4. – С. 35-39.

38. Юданова Т.Н., Скокова И.Ф., Божьева М.В., Гальбрайх Л.С. Получение и свойства лечебных перевязочных средств с комбинированным действием // Хим. технология. – 2002. – №12. – С. 30-33.

39. Скокова И.Ф., Юданова Т.Н., Дронова М.В., Гальбрайх Л.С. Текстильные материалы медицинского назначения с комбинированным биологическим действием: получение и свойства // Текстильная химия. – 1998. – №1(13). – С. 96-102.

40. Олтаржевская Н. Д., Кричевский Г. Е. Лечебные текстильные материалы "Колетекс"-эффективные многофункциональные депо-системы //Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39. – №. 3. – С. 42-50.

41. Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Савилова Л.Б. Текстиль и медицина. Перевязочные материалы с пролонгированным лечебным действием // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – № 1. – С. 133-141.

42. Олтаржевская Н. Д. Новые текстильные материалы для онкологии //Текстильная химия. – 2000. – №. 2. – С. 18.

43. .Валуева М. И., Максимова Ю. С., Олтаржевская Н. Д., Фенин А. А. Исследование влияния радиационной гамма-стерилизации на гидрогели альгината натрия //Актуальные проблемы химии высоких энергий. – 2008. – Т. 52. – №. 5. – С. 131.

## **5. НЕРАССАСЫВАЮЩИЕСЯ ХИРУРГИЧЕСКИЕ ШОВНЫЕ НИТИ**

Основной функцией любого хирургического шва является обеспечение достаточно плотного, герметичного и надежного соединения ушиваемых тканей и удержание их в фиксированном положении с постоянной компрессией в течение всех этапов заживления раны, включая послеоперационный отек.

После срастания краев раны функция швов зачастую исчерпана и целесообразно удаление из организма инородного материала путем оперативного снятия швов либо, что предпочтительнее, в результате биодegradации и рассасывания хирургических нитей. Однако при протезировании органов и тканей в сердечно-сосудистой, пластической и других областях хирургии швы должны гарантировать надежное соединение синтетических протезов и биологических тканей в течение очень длительного периода, т.е. требуются биорезистентные хирургические нити. В ряде хирургических ситуаций целесообразно применение антимикробных и других биологически активных нитей.

### **5.1. Требования к хирургическим шовным нитям**

Каждая конкретная операция требует использования адекватного шовного материала, причем, с учетом конкретной ситуации - общее состояние больного, возраст, наличие инфекции, воспалительный процесс и другое. С учетом этого, одной из проблем, определяющих дальнейший прогресс современной медицины, является создание шовных материалов наиболее рациональных в той или иной хирургической ситуации. В современной хирургии выбор шовного материала определяется прежде всего тем, какие требования к нему предъявляются для данной хирургической операции.

Общие требования, предъявляемые к шовным нитям:

- прочность, в том числе в узле;
- мягкость и эластичность;
- атравматичность;
- оптимальное трение (не должна проскальзывать и легко завязываться);
- биосовместимость, нетоксичность, бактерицидность;
- тромборезистентность;
- низкая фитильность;
- диаметр 0,03 - 0,6 мм;
- в ряде случаев способность к резорбции (рассасыванию в организме);
- устойчивость при стерилизации.

Рассасываемость – это способность нитей диспергироваться, биodeградировать с образованием нетоксичных низкомолекулярных соединений, которые выводятся из организма. Такое требование обычно предъявляют к нитям при наложении внутренних швов. Это подразумевает использование в качестве волокнообразующего биodeградируемого полимера. В этом случае сам шовный материал можно рассматривать как временный эндопротез, и такие материалы будут рассмотрены в соответствующей части монографии.

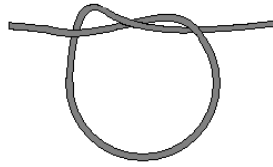
Диаметр нитевидной части, рекомендуемой для использования в различных операциях, колеблется от 1.0 до 0.01мм [1]. Нормируемыми Европейской фармакопеей (EP) и фармакопеей США (USP) являются два показателя: метрический размер (MP) - округленный десятикратный диаметр (или условный номер) и минимально допустимые для данного MP значения прочности (табл. 5.1) [2]. При этом первостепенной значимостью обладает показатель  $P_{уз}$  – прочность нити, завязанной в узел (рис. 5.1). Это связано с тем, что прочность нити, завязанной в узел, всегда ниже, прочности нити без него [3, 4].

Таблица 5.1

Требования, предъявляемые EP и USP к синтетическим хирургическим нитям [2]

Диаметр нити, мм	Метрич. размер	Условн. номер	Не рассасывающиеся		Рассасывающиеся	
			$P_{уз}$ по EP, Н, не менее	$P_{уз}$ по USP, Н, не менее	$P_{уз}$ по EP, Н, не менее	$P_{уз}$ по USP, Н, не менее
0.150 – 0.199	1.5	4/0	5.0	5.88	9.5	9.32
0.200 – 0.249	2	3/0	9.0	9.41	17.7	17.4
0.250 – 0.299	2.5	2/0	13.0	-	21.0	-
0.300 – 0.349	3	2/0	15.0	14.1	26.8	26.3
0.350 – 0.399	3.5	0	22.0	21.2	39.0	38.2
0.400 – 0.499	4	1	27.0	26.7	50.8	49.8
0.500 – 0.599	5	2	35.0	34.5	63.5	62.3
0.600 – 0.699	6	3/4	50.0	47.8	-	71.5
0.700 – 0.799	7	5	62.0	60.4	-	-
0.800 – 0.899	8	6	73.0	71.4	-	-

По международному стандарту допускается падение прочности нити с узлом не более чем на 25% [2], хотя для некоторых нитей потеря прочности в узле достигает 50% от исходной. Особенно существенно снижение прочности в узле у монопнитей [5].



**Рис. 5.1. Простой узел, применяемый для измерения нормируемого значения  $R_{уз}$  в соответствии с требованиями EP, USP [2]**

Удерживающая способность и надежность узла связаны с жесткостью нити, ее толщиной, поверхностными свойствами, структурой и природой волокнообразующего полимера. Как правило, более жесткая и толстая нить с более гладкой поверхностью и низким коэффициентом трения обладает пониженной надежностью узла, и чтобы шов не развязывался, необходимо завязывать более сложные узлы. Наиболее тонкая из исследованных авторами [4] лавсановая плетеная нить с диаметром 0.18мм имеет наибольшее число надежных узлов. По мере увеличения толщины нити количество надежных узлов уменьшается, и для самого большого диаметра 0.84мм надежностью в 100% обладают только два узла ( $1=1=1=1$ ) и ( $1 \times 1 \times 1 \times 1$ ). Авторами [5] установлено, что для плетеных и крученых ПКА нитей почти все узлы кроме указанных двух отличаются малой надежностью. Формирование более четырех петель в узле является не целесообразным, так как это не приводит к существенному увеличению его надежности и значительно повышает расход нити [3]. В определенной степени надежность узла зависит также от длины отрезанных вблизи узла концов нити, при этом, чем длиннее оставляемые концы, тем меньше вероятность того, что узел развяжется. В то же время излишне длинные концы, особенно на внутренних швах, увеличивают вероятность нагноения и развития лигатурных свищей.

Чем прочнее нить, тем меньшим может быть ее диаметр и как следствие менее выражена реакция тканей. Проведенные исследования [6] показали, что применение нити с условным номером 4/0 вместо 2/0 позволило упростить накладываемый шов с 5 до 3 узлов и снизить в 1,5 раза реакцию ткани организма.

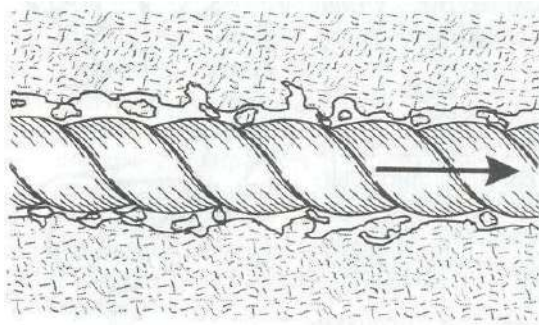
Для рассасывающихся шовных материалов важным требованием является сохранение ими прочности в течение срока, необходимого для заживления раны [3,6]. В среднем такой срок для раны, заживающей без осложнений, составляет 2-3 недели. Как видно из таблицы 5.1, к рассасывающимся нитям предъявляют более высокие требования по прочности узла, чем к не рассасывающимся нитям, и для тонких нитей разница в минимально допустимой прочности достигает двух крат.

Немаловажным свойством хирургических нитей является их капиллярность (фитильность), т.е. способность жидкости перемещаться по пространству между элементарными волокнами [7], поэтому капиллярность

свойственна всем полифиламентным нитям. Размер капиллярных пор между элементарными волокнами в этих нитях, составляющий обычно около 10 мкм, вполне достаточен для проникновения внутрь бактерий, большинство которых имеет размер около 1 мкм [5]. Капиллярность шовного материала считают одной из причин распространения инфекции по нитям в подлежащие ткани. По стандартам зарубежных фирм капиллярные нити непригодны для применения в хирургической практике.

Инертность или биосовместимость в широком понимании – это отсутствие реакции тканей на шовный материал. В частности рассматривают характер и выраженность воспалительной реакции; оценивают аллергенное, токсическое, воздействия нити на ткани организма.

Атравматичность является комплексным качеством шовного материала и определяется структурой, толщиной, поверхностными свойствами нити, а также способом соединения нити и иглы. Все крученые и плетеные нити обладают неровной поверхностью и при их протягивании через ткани организма возникает «эффект пилы» (рис. 5.2.), который приводит к травме и увеличивает реакцию воспаления. В связи с этим большинство плетеных нитей выпускают со специальным полимерным покрытием, которое придает ей гладкую поверхность, тем самым снижает выраженность распиливающего эффекта.



**Рис. 5.2. Разрушение тканей организма из-за распиливающего эффекта при проведении через них комплексной нити**

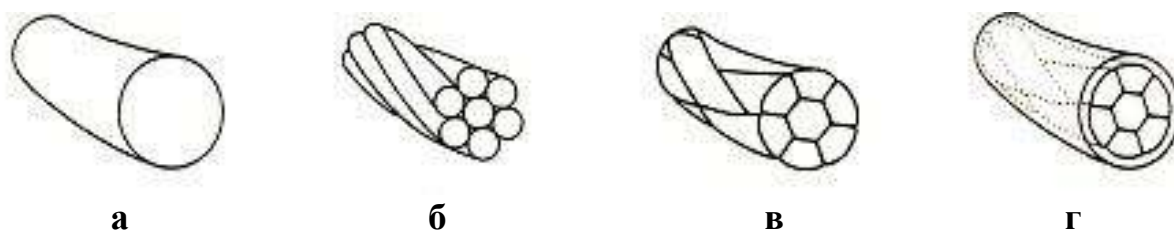
Под стерилизуемостью следует понимать устойчивость хирургических нитей к воздействиям, уничтожающим микроорганизмы. После стерилизации нить должна сохранять свои функциональные параметры и в соответствии с требованиями ЕР [2] сохранять не менее 75% исходной прочности.

Таким образом, перед разработчиками стоит сложная задача придать хирургической нити оптимальное сочетание описанных выше требований.

Существует несколько признаков, по которым классифицируют хирургические нити. По структуре различают мононити (рис. 5.3, а) и комплексные нити (рис. 5.3, б-г). В свою очередь комплексные хирургические нити бывают кручеными, плетеными и с полимерным покрытием. Моно-



нити, или монофиламентные нити характеризуются однородной структурой с гладкой поверхностью.



**Рис. 5.3. Строение хирургических нитей: а – мононить; б – крученая нить; в – плетеная нить; г – нить с полимерным покрытием**

Они отличаются отсутствием «эффекта пилы», но могут резать ткани, поэтому даже эти нити часто покрывают оболочкой для улучшения протягивающих свойств. Комплексные хирургические нити, как правило, плетеные с покрытием в настоящее время наиболее распространены и представлены под торговыми марками: «викрил», «полисорб», «суржидак», «тикрон», «бралон», «супрамид», «фторэкс», «фторлин».

К нерассасывающимся материалам (табл. 5.2) относятся полиамиды (капрон); полиэфиры (лавсан, мерсилен, этибонд); полиолефины (суржипро, пролен, суржилен); материалы на основе поливинилидена (корален); фторполимеров (го-тэкс, витафон, фторэкс); металлическая проволока [5]. Нерассасывающиеся нити даже спустя годы могут служить причиной воспалительных осложнений, в связи с чем сфера их применения постоянно сужается. В то же время многие хирурги продолжают широко использовать нерассасывающиеся нити, поскольку они более дешевы и удобны в производстве и стерилизации и обладают большим разнообразием. Не рассасывающиеся материалы незаменимы при протезировании, при ушивании плохо заживающих тканей, испытывающих длительное натяжение после операции.

Таблица 5.2

Классификация нерассасывающихся нитей [3, 5, 6]

Классификация		Название нити	Структура и состав нити
Природные	Крученые, плетеные	Лен, хлопок	Лен, хлопок
	Монофиламентные	Суржипро, пролен, суржилен	Сополимер пропилена и этилена $[-CH_2-CH(CH_3)-]_n [-CH_2-CH_2-]_m$
Синтетические		Моносов	Блочный сополимер $\epsilon$ -капролактама и полигексаметилендиамида: $[-NH-(CH_2)_5-CO-]_n$

			$[-NH-(CH_2)_6-NHCO-(CH_2)_4-CO-]_m$
		Новафил	Сополимер бутилентерефталата и политетраметиленгликоля $[-CO-C_6H_4-COO-(CH_2)_4-]_n [-O-(CH_2)_4-]_m$
		Капрон	Поликапроамид $[-NH-(CH_2)_5-CO-]_n$
		Каролен	Винилиденфторид $[-CH_2-CF_2-]$
		Готекс	Фторполимер
	Крученые	Капрон	Поликапроамид
		Лавсан	Полиэтилентерефталат $[-CO-C_6H_4-COO-(CH_2)_2-O]_n$
	Плетеные	Тикрон I, лавсан, мерсилен	Полиэтилентерефталат
	С покрытием	Васкуфил	Мононить из сополимера бутилентерефталата и политетраметиленгликоля, покрытие - сополимер $\epsilon$ -капролактама, гликолида, полоксамера-188
		Тикрон II	Плетеная нить из полиэтилентерефталата с покрытием силиконом
		Флексон	Крученая проволока из нержавеющей стали с покрытием из политетрафторэтилена
		Фторлин	Крученая поликапроамидная нить с фторполимерным покрытием
		Бралон, этибонд, суржидак, бра-лон	Плетеная полиэфирная нить с покрытием
		Фторэкс	Полиэфирная мононить с фторполимерным покрытием

Полиамидные нити (капрон) – прочные и тонкие, особенно удобны при проведении тонких операций в глазной микрохирургии и нейрохирургии. Применение ПА волокон сдерживается их недостаточной биосовместимостью, хотя продукт деструкции  $\epsilon$ -аминокапроновая кислота  $H_2N-(CH_2)_5-COOH$  безвредна для организма [8]. Эти нити часто являются очагом возникновения вялотекущего воспаления, которое длится все время, пока нить находится в тканях [8]. Наименьшая реакция организма проявляется на монофиламентных нитях, увеличивается на плетеных, а самая большая на крученых. Монофиламентные полиамидные нити применяют для ушивания кожи, бронхов, сухожилий, апоневроза [9].

Полиэфирные нити (лавсан) более инертны, чем полиамидные, вызывают меньшую тканевую реакцию. Нити выполняются, в основном, пле-

тенные и отличаются исключительной прочностью, уступая по этому показателю только металлическим волокнам [6]. Недостатком нитей из лавсана является травматичность и фитильность.

Высокоинертной к тканям организма является полипропиленовая нить. Полиолефины можно применять в инфицированных тканях и даже в случае, если рана нагноилась [5,9]. Из всех монофиламентных нитей за исключением «биосина» полипропилен, благодаря способности фибриллироваться при затягивании узла, обладает надежным узлом [5]. Технология переработки полипропилена, например, предложенная авторами [10], позволяет получать хирургические нити с физико-механическими свойствами, сопоставимыми со свойствами ушиваемых тканей. Еще более инертны к тканям организма, чем полипропилен, шовные материалы на основе фторполимеров. Из высокоочищенного политетрафторэтилена производят нити марки “go-tex”, обладающие высокой тромбрезистентностью. Такие нити незаменимы в сосудистой хирургии для подшивания трансплантата [6].

## **5.2. Поверхностная модификация шовных нитей**

Большая доступность и прочность нерассасывающихся синтетических хирургических нитей обуславливают целесообразность разработки способов их модифицирования. При этом особый интерес представляет получение нитей с комбинированными свойствами. Наиболее простым методом повышения биосовместимости и придания асептических свойств нерассасывающимся нитям является метод нанесения покрытия из растворов биополимера.

Следует отметить, что известные зарубежные фирмы производители шовного материала («Ethicon», «Davis & Greck») практически весь ассортимент шовных нитей выпускают с покрытием, поскольку капиллярные нити считают непригодными для применения. При нанесении покрытия снижение капиллярности происходит вследствие уплотнения комплексной нити и устранения в ней межволоконных полостей, а также придания поверхности гидрофобности.

Поскольку покрытие, как правило, не увеличивает прочность нити, то для сохранения исходного метрического размера, максимально допустимое содержание покрытия для тонких нитей (MP-1.5) составляет 24.6%, а для толстых нитей (MP-8.0) 11.0%. В связи с этим, нити со слишком толстой оболочкой, полученные, например, авторами [7, 11, 12], не могут удовлетворять требования международного стандарта. Испытания большинства нитей с покрытиями в хирургических узлах показали, что во избежание их соскальзывания необходимо выбирать узлы сложной конфигурации, что увеличивает присутствие материала внутри организма [7]. Дан-

ное явление может быть связано с повышением жесткости нитей и/или приобретения нитью гладкой поверхности.

Для покрытия целесообразно выбирать полимер из ряда биосовместимых, которые по химической природе и по конструкции и не только не вызывают негативных реакций, а в случае введения в его структуру БАВ, сохраняя собственную стерильность, способствует процессу заживления. В состав модифицирующей композиции могут входить полимеры, обладающие способностью разрушаться или рассасываться в жидкой среде организма без образования токсичных продуктов. Определенный срок разрушения оболочки обеспечивает медленное высвобождение лекарственного препарата в раневую среду.

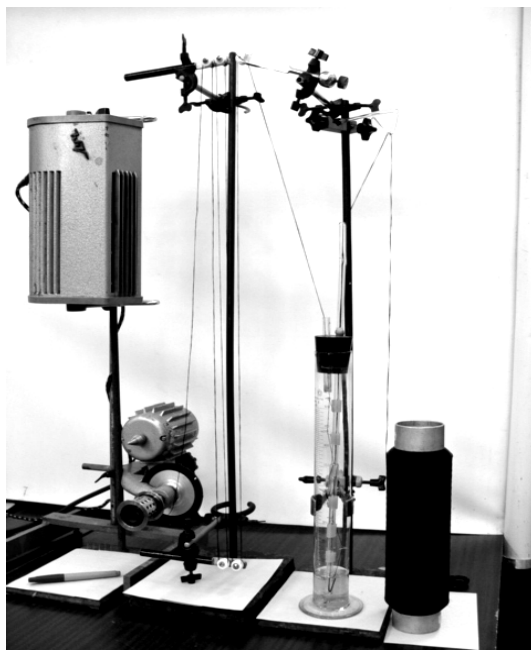
Во многих работах применяется схожее аппаратное оформление процессов модифицирования. Исходная нить с определенной скоростью поступает в пропиточную ванну, заполненную раствором полимерного модификатора, БАВ и других добавок, а на выходе ее пропускают через калиброванное отверстие для удаления избытка раствора и возврата его в ванну. Далее нить сушат в термокамере с зональным обогревом. Если предусматривается получение многослойной оболочки, то высушенную нить через поворотный ролик возвращают в пропиточную ванну, вновь обрабатывают пропиточным раствором, калибруют и сушат. Количество обработок нити полимерным раствором соответствует необходимой толщине покрытия. Диаметр калиброванного отверстия после каждой последующей пропитки увеличивается на несколько микрон. В ряде случаев полученную нить в оболочке подвергают термофиксации.

В работах [13-15] разработан метод нанесения покрытий из полигидроксипропиридата (ПГБ) на капроновые, лавсановые и фторлоновые шовные нити и сконструирована лабораторная установка (рис. 5.4).

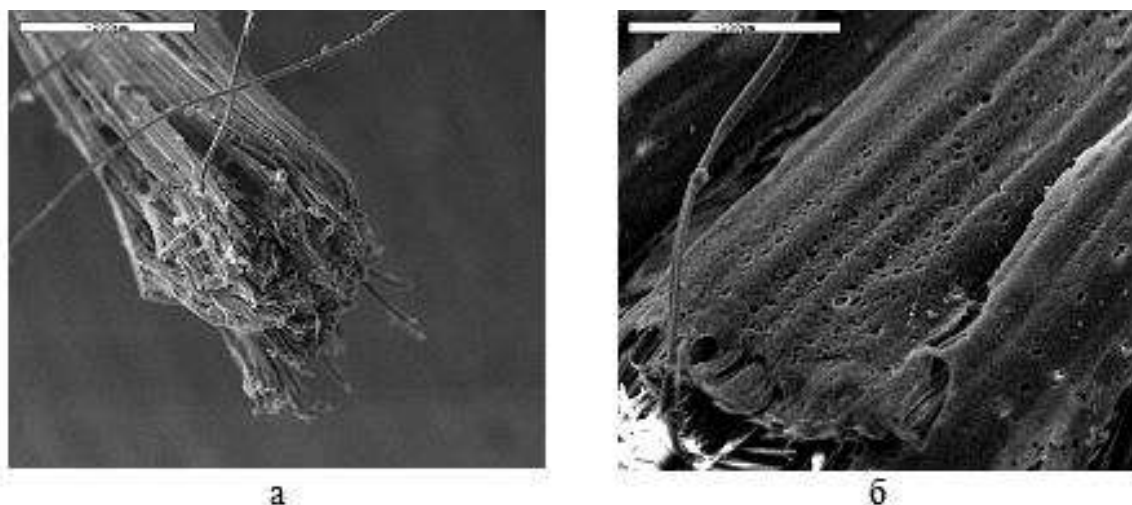
Готовая хирургическая шовная нить с выходной паковки через тефлоновый ролик вертикально вниз поступает в емкость с модифицирующим раствором ПГБ, содержащим в случае необходимости добавки красителя или антимикробного вещества. Затем нить через поворотный ролик вертикально вверх проходит по центру через калиброванное отверстие (фильеру) для удаления избытка раствора и возврата его в ванну. Для того, чтобы полимер не подсыхал в отверстии фильеры и не оказывал воздействия на формирование покрытия, в фильерном комплекте предусмотрена установка стеклянной трубки высотой 8 см и диаметром 5 мм, которая обеспечивает сохранение парциального давления растворителя над фильерой и тем самым препятствует испарению растворителя из раствора, удерживаемого фильерой.

Общий вид модифицированных нитей, представленный на рис. 5.5, свидетельствует о том, что модификация нитей приводит к формированию равномерно распределенного пленочного покрытия. Было показано увели-

чение гладкости и снижение токсичности материала по сравнению с исходной шовной нитью [15].



**Рис. 5.4. Узел нанесения покрытия на хирургические нити [13]**



**Рис. 5.5. Электронно-микроскопические фотографии сколов исходной (а) и модифицированной (б) нитей [15]**

Помимо повышения совместимости хирургических нитей из недеградируемых синтетических полимеров описанный метод модификации позволяет вводить в состав покрытия биологически активные вещества [13]. Аналогичный эффект достигнут при использовании нити НИКАНТ (нить из ПКА, модифицированная пленочным покрытием, содержащим антибиотик доксициклин) [15-18].

### 5.3. Биологически активные хирургические нити

В зависимости от метода введения биологически активные препараты могут входить в тонкую структуру волокна по типу соединений включения, быть зафиксированными на волокне химическими связями либо закрепленными на нем в виде труднорастворимых индивидуальных веществ, наносимых с помощью полимерных покрытий или низкомолекулярных посредников [16-19].

Рынок биологически активных шовных материалов представлен в основном антимикробными, причем преимущественно разработанными и производимыми в РФ: «Капрогент» - капроновая нить с фиксированным химической связью гентамицином (ООО «Линтекс», Санкт-Петербург), «Никант» - капроновая нить с полиамидным покрытием, содержащим доксициклин (ВНИИСВ, г. Тверь), «Капроаг» - условно рассасывающаяся капроновая нить с покрытием, наполненным хлоргексидина биглюконатом (ООО «Репромед», Москва).

Автором [17] в качестве антимикробных средств предложено использовать антибиотики – гентамицин, клиндамицин и метронидазол, антисептики - диоксидин и мирамистин, а также некоторые соединения серебра. Объектами модификации были полипропиленовые плетеные нити, поливинилиденфторидные мононити, лавсановые плетеные нити с фторполимерным покрытием.

В обзоре В.А.Жуковского [18] приводится ряд способов придания хирургическим шовным нитям различных видов биологической активности, реализованных в последние годы:

- обработку поливинилиденфторидных мононитей осуществляли инклюдированием насыщенными растворами диоксида в полярных органических растворителях при 40 0С, а на лавсановые нити наносили фторполимерное покрытие с диоксидином, миримастином и ацетатом серебра.

- антимикробные свойства полигликолидным нитям придавали путем нанесения покрытия из сополимера гликолевой и молочной кислот (70% и 30% соответственно), содержащего до 2% мирамистина.

Результаты микробиологических и доклинических испытаний полученных шовных материалов показали, что для эффективного и продолжительного антимикробного действия необходимо ввести в нити не менее 3-5% антибиотиков, 0,5% антисептиков и ацетата серебра. Шовные материалы не обладают токсическими или канцерогенными свойствами, не оказывают негативного влияния на формирование грануляционной ткани, а также на пролиферативные потенции фибробластов [17].

Клиническое применение антимикробных шовных материалов показало их эффективность в части профилактики гнойных осложнений после

операций у такой сложной категории пациентов, как больные с онкологическими заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

В целях снижения доз обезболивающих (зачастую наркотических препаратов), применяемых в послеоперационном периоде, разработаны хирургические нити, обладающие антимикробным и анестезирующим пролонгированным действием. В качестве лекарственных ингредиентов в ионообменные поликапроамидные (ПКА) нити с привитой метакриловой кислотой и ПП-нити, получение которых описано выше, включали ионогенные антибиотики: гентамицин, канамицин, клиндамицин и анестетики контактного действия: новокаин, тримекаин, пиромекаин, лидокаин, ультракаин. По данным исследований *in vitro* исходная антимикробная активность ПП- и ПКА-нитей на твердой питательной среде проявлялась в зоне до 30-35 мм вокруг нитей, что вполне перекрывает расстояние между соседними швами на ране. Продолжительность обезболивающего действия хирургических нитей составляла 40-60 часов [17].

Для гидролитического расщепления некротизированных тканей, всегда имеющих в зоне швов и являющихся питательной средой для микроорганизмов, осуществляли иммобилизацию на ионообменных ПКА- и ПП-хирургических нитях протеолитических ферментов – трипсина и пепсина [17,18]. Показано, что по активности ферменты, иммобилизованные в количестве 6-10 мг на грамм нити, значительно превосходят нативные.

Разработаны методы получения шовных нитей, сочетающих антимикробные и ферментативные свойства. Установлено, что сорбция ферментов описанными выше антимикробными материалами практически не изменяет их антимикробную активность, в то время как присутствие антибиотиков сенсibiliзирует протеолитическую активность трипсина и пепсина [17].

Требованиям, предъявляемым к шовным материалам, в наибольшей степени отвечают хирургические нити из фторсодержащих полимеров [17].

Очень часто вокруг шовной нити наблюдается воспаление, которое при любом инфицировании чревато развитием гнойных осложнений. Если же использовать шовную нить, содержащую и протеолитический фермент, возможность гнойных осложнений резко уменьшается и сроки заживления ран и швов сокращаются, поэтому эта идея не нова. Из данных табл. 5.3 наглядно видно, что при использовании фторлоновых нитей микробная обсемененность, количество нагноившихся швов и сроки их заживления заметно ниже.

И еще ниже эти показатели в случае использования фторлоновых нитей, содержащих ферментный препарат трипсин. Фермент способствует разрушению некротических масс (денатурированных белков), нормализует кровообращение и обмен веществ. Нити, содержащие фермент трипсин и обладающие некролитическим действием, разработаны в нашем вузе [21-23].

В отсутствие химических связей между белком и полимером-носителем высвобождение фермента из материала происходит путем диффузии макромолекул белка в окружающую среду, а при использовании в качестве носителя водорастворимого полимера - по мере его растворения.

Таблица 5.3

Результаты лечения экспериментальных ран при использовании разных шовных материалов \*) [21].

Волокно	Число колониеобразующих микроорганизмов в 1 мм <sup>3</sup> ткани на 7 день	Количество нагноившихся ран, %	Средние сроки очищения ран, дни
Лавсан	50 / 640	0 / 33	9 / 12
Фторлон	30 / 685	0 / 25	8 / 9
Фторлон, содержащий трипсин	4 / 320	0 / 12	3 / 2

\*) В числителе данные для группы животных с “чистыми” ранами, в знаменателе - с ранами, инфицированными стафилококком.

При иммобилизации трипсина в структуре волокна фторлон путем формирования из суспензии фермента в растворе фторопласта в ацетоне изменение структуры волокна в результате пластификационного вытягивания приводит к заметному изменению скорости десорбции и количества десорбированного фермента. Увеличение степени вытягивания волокна до 500% позволяет получить волокно, сохраняющее после выдерживания в течение суток в физиологическом растворе (37°C, М=10) 40% введенной активности. В этих же условиях из невытянутого волокна в физиологический раствор переходит 100% ТР уже за 4 часа [21, 22].

На основе ферментсодержащего волокна фторлон были разработаны хирургические шовные нити, содержащие включенные в их структуру протеолитические ферменты. Эффективность их использования была проверена при лечении экспериментальных ран у животных (табл. 5.4). Испытания, проведенные на кафедре общей хирургии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова, показали, что при использовании шовной фторлоновой нити, содержащей иммобилизованный трипсин, значительно уменьшаются сроки заживления ран и снижается число нагноившихся ран у инфицированных животных по сравнению с традиционными шовными материалами.

Таким образом, перед разработчиками шовных нитей стоят задачи снижения линейной плотности исходных моноволокон (вырабатываемые сейчас имеют тонину 5-12 текс), переход на плетеные комплексные нити, для снижения фитильности и повышения гладкости которых необходимо проводить их модифицирование, в том числе фторсодержащими полиме-



рами для повышения гладкости, а также антимикробными веществами и веществами, стимулирующими заживление операционной раны. Как уже было отмечено, применение хирургических нитей из фторлона, содержащего протеолитический фермент трипсин, для ушивания экспериментальных ран у животных улучшает течение раневого процесса, снижает количество нагноившихся ран, сокращает сроки лечения.

Таблица 5.4

Динамика экспериментальной раневой инфекции при использовании различных шовных нитей [21]

Тип нити	*	Время наблюдения, сут.			Число нагноившихся ран,%	Сроки заживления, сутки
		5	7	10		
		Число колониеобразующих микроорганизмов в 1 мг ткани				
Фторлон с трипсином	1	40000	4	0	0	3
	2	10000	320	3	6,2	2.5
Фторлон	1	120000	30	0	0	8
	2	80000	680	70	25	9
Полиэфир	1	100000	50	0	0	9
	2	80000	640	85	33	12

\* 1 группа - асептические раны, 2 группа - раны, инфицированные кишечной палочкой

Интересно отметить, что при разработке шовных материалов немаловажной является задача окрашивания нитей в голубой или зеленый цвет, что необходимо для улучшения их визуализации на розовом или красном раневом фоне.

В стоматологической практике и для ежедневного ухода за зубами широко используются зубные нити. Основными производителями данного вида изделий являются фирмы “Jonson and Jonson”, “Oral B” и “Jordan”. Для изготовления нитей используют ПА комплексную нить, иногда содержащую абразивные или ароматические добавки. Такие нити оказывают профилактическое, а в случае, если нить содержит какое-либо антимикробное или другое лекарственное вещество, то и лечебное действие. Во ВНИИСВе (г.Тверь) разработан специальный метод молифицирования ПА нитей и получения профилактической и лечебной зубных нитей “низон” и “супернизон”.

В обзоре [17] отмечается, что биологически инертные синтетические нерассасывающиеся нити на настоящий момент по ассортименту и потребительским качествам приблизились к пределу требований, предъявляемых современной хирургией. Дальнейший прогресс в области создания

новых типов материалов для хирургии автор связывает с разработкой технологических процессов получения прочных и эластичных нитей из биосовместимых рассасывающихся природных полимеров: полигидроксиканоатов (полигидроксibuтират, полигидроксивалерат и их сополимеры), коллагена, хитина, хитозана и др.

Свойства этих биополимеров и получение на их основе биodeградируемых материалов для эндохирургии и тканевой инженерии будут рассмотрены во второй части данной монографии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Винокурова Т.И., Кирюхин С.М., Федорова Е.Ф. Оценка надежности хирургических узлов // Известия вузов. Технология текстильной промышленности. – 1997. – № 4. – С. 12-15.
2. Сергеев В.П., Плыгань Е.П., Иващенко Е.А., Вагин Н.И., Баглей Н.Н. Разработка методов получения модифицированных хирургических нитей, соответствующих современным требованиям медицины // Химические волокна. – 2002. – № 6. – С. 49 – 55.
3. European Pharmacopoeia. 5th edition: 0324 “Sutures, Sterile Non-Absorbable”. – Strasbourg: Council of Europe, 2001. – P. 874-878.
4. Буянов В.М., Енгиев В.Н., Удотов О.А. Хирургический шов. – М.: ТОО «Рапид-принт», 1993. – 50 с.
5. Слепцов И.В., Черников Р.А. Узлы в хирургии. – СПб.: Салит – Медкнига, 2000. – 176с.
6. Жуковский В.А. Разработка хирургических шовных материалов и промышленных технологий их получения // Химические волокна. – 1992. – №5. – С. 6-8.
7. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – 400 с.
8. Генис А.В., Шкуренко С.И., Идиатулина Т.С., Киселев В.В. Исследование кинетики десорбции лекарственного препарата из полиамидных комплексных нитей // Пластические массы. – 2005. – №2. – С. 46 – 52.
9. Пат. 2237494 РФ, МПК А61L 17/00, А61В 17/06, Антимикробная шовная хирургическая нить / Шкуренко С.И., Рыкалина В.Е., Смирнова Е.И., Крылов А.Л., Щербинин В.В. - № 2003110013/14; заявл. 09.04.2003, опубл. 10.10.2004.
10. Ковтун Е.А., Баглей Н.Н., Плыгань Е.П., Сергеев В.П. Исследование кинетики выделения декаметоксина из модифицированных хирургических нитей в водной среде // Химические волокна. – 1999. – №5. – С.33 – 37.
11. Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Гальбрайт Л.С. и др. Получение биodeградируемых пористых пленок для использования в качестве ране-

вых покрытий // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42. – № 6. – С. 716-720.

12. Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Савилова Л.Б. Текстиль и медицина. Перевязочные материалы с пролонгированным лечебным действием // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI. – № 1. – С. 133-141.

13. Федоров М.Б., Вихорева Г.А., Кильдеева Н.Р., Мохова О.Н, Бонарцева Г.А., Гальбрайх Л.С. Антимикробная активность хирургических нитей, модифицированных полигидроксибутиратом, со структурой ядро-оболочка // Прикл. биохим и микробиол. –Т.43. – №6. – 2007. – С. 685-690.

14. Федоров М.Б., Вихорева Г.А., Кильдеева Н.Р., Масликова А.Н., Бонарцева Г.А., Гальбрайх Л.С. Моделирование процесса поверхностного модифицирования шовных нитей // Химические волокна. – 2005. – №. 6. – С. 24-28.

15. Федоров М.Б., Вихорева Г.А., Винокурова Т.И., Борисова Ю.К., Гальбрайх Л.С. Влияние покрытия из полигидроксибутирата на характеристики хирургических узлов лавсановых нитей // Химические волокна. – 2008. – №. 2. – С. 31-34.

16. Мохов Е. М., Жеребченко А.В. Использование биологически активных хирургических шовных материалов (обзор литературы) // Тверской медицинский журнал. – 2013. – Т. 2. – С. 86-100.

17. Жуковский В.А. Проблемы и перспективы разработки и производства хирургических шовных материалов // Химические волокна. – 2008. – №. 3. – С. 31-37.

18. Мохов Е.М., Жеребченко А.В. Биологически активные хирургические шовные материалы (обзор литературы) // Верхневолжский медицинский журнал. – 2012. – Т. 10. – №. 4. – С. 21-27.

19. Мохов Е.М., Сергеев А.Н., Серов Е.В. О разработке новых биологически активных шовных материалов и их применении в абдоминальной хирургии // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21. – №. 3. – С. 23-32.

20. Жуковский В.А. Современные тенденции и подходы к разработке полимерных эндопротезов для герниопластики // Вестник хирургии. – 2011. – Т.170. – С.102-105.

21. Virnik A.D., Skokova I.F., Khomyakov K.P., Kildeyeva N.R., Trusova S.P., Vysotskaya E.P. Development of bandage materials based on natural and synthetic polymers containing immobilized enzymes // Russian Biochemistry and Biotechnology. – 1991 – V.1. – № 2/3. – P. 45.

22. Кильдеева Н.Р., Гальбрайх Л.С. Управление процессом фиксации белка в структуре химических волокон и пленок // Хим. волокна. – 1999. – №4. – С.29-32.

23. Вихорева Г.А., Скокова И.Ф., Кильдеева Н.Р. Волокнистые и пленочные материалы для медицины и биотехнологии. – М: МГТУ им.А.Н.Косыгина, 2005. – 56 с.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как неоднократно было отмечено и показано при изложении материала предыдущих глав, появление волокнистых и пленочных материалов нового поколения позволило по существу принципиально изменить их функции при применении в медицине и биотехнологии, создав условия для повышения социальной (сокращение сроков лечения и реабилитации) и экономической эффективности системы здравоохранения, организации инновационных биотехнологических процессов.

Проведенный далеко не исчерпывающий анализ современного состояния научных и научно-технических разработок в области создания полимерных материалов медико-биологического назначения свидетельствует об огромном внимании, которое уделяется проблемам разработки и применения биологически активных материалов в форме нитей, волокон, тканей, нетканых материалов и пленок, методам направленного регулирования (модифицирования) их свойств. Существование принципиальной разницы в поведении таких материалов в условиях контакта с жидкими средами – как в тканях живого организма, так и при реализации различных биотехнологических процессов – определило разделение монографии на две части, первая из которых посвящена рассмотрению методов получения, характеристике свойств и направлений применения нерезорбируемых текстильных и пленочных материалов.

Необходимо было подчеркнуть, что сложность, многофакторность процессов, происходящих при взаимодействии между биологически активными материалами и объектами их воздействия обуславливает необходимость выполнения комплекса различных, в ряде случаев взаимоисключающих требований к материалам медицинского назначения, а возможность их применения также в биотехнологических процессах – и специфику требований в этой области. С этим связано внимание, которое уделено рассмотрению факторов, определяющих кинетику выделения иммобилизованных лекарственных соединений, создания терапевтически необходимых концентраций и возможность пролонгирования их действия – типа связи между лекарственным препаратом и полимером-матрицей, особенностями структуры полимера, характером распределения в структуре иммобилизованного вещества.

Особое место среди волокнистых и пленочных биологически активных материалов занимают материалы, содержащие иммобилизованные ферменты и их комплексы с лекарственными соединениями небелковой химической природы. Лабильность ферментов, возможность конформационных изменений макромолекулы при различных воздействиях определило необходимость обсуждения факторов, регулирующих активность и стабильность иммобилизованных ферментов – как хорошо известных (рН- и температурная зависимость), так и основанных на анализе характера взаи-

модействий в многокомпонентных полимерных системах и роли их структурной организации. Результаты, полученные при совместной работе химиков, медиков и технологов показывают, что именно такой подход является основой определения конкретных параметров получения и применения таких материалов в существующих в медицинской и биотехнологической практике процессах.

Следует подчеркнуть, что разнообразие материалов медико-биологического назначения определяется не только характером собственно функциональной активности, но и химическим строением полимера, способом иммобилизации биологически активного компонента, типом и структурой полимерного материала – поверхностной плотностью нетканого материала, характером переплетения в тканях и трикотажных полотнах, видом хирургических нитей.

Рассмотренный авторами материал свидетельствует о значительном вкладе отечественных ученых в решение проблемы создания современных высокоэффективных волокнистых и пленочных материалов для медицины и биотехнологии. Не случайно, что в 2013 г. «за разработку, промышленное освоение и широкое внедрение в практику текстильных технологий для получения лечебных депо-материалов, обеспечивающих направленную доставку лекарств» премией Правительства Российской Федерации в области науки и техники была отмечена работа коллектива авторов (руководитель работы Н.Д.Олтаржевская [1], а в результате многолетних исследований по разработке инновационных технологий новых видов конкурентоспособных импортозамещающих волокнистых хирургических материалов организовано серийное производство комплекса изделий медицинского назначения (хирургических нитей различного типа, сетчатых эндопротезов и имплантатов) [2].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 20 февраля 2014 г. №230-р г. Москва.
2. Жуковский В.А. Научное обоснование и разработка технологии волокнистых хирургических материалов со специальными свойствами: Дис. ...докт. техн. наук – СПб: СПбГУТД, 2013.– 288 с.

**КИЛЬДЕЕВА НАТАЛИЯ РУСТЕМОВНА,  
ВИХОРЕВА ГАЛИНА АЛЕКСАНДРОВНА,  
ГАЛЬБРАЙХ ЛЕОНИД СЕМЕНОВИЧ**

# **ВОЛОКНИСТЫЕ И ПЛЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

## **Ч.1. НЕРЕЗОРБИРУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

Научное издание

Печатается в авторской редакции

Техническое редактирование и подготовка электронного макета:  
Николаева Н.А., Строганова Г.В.

Подписано в печать 26.12.14 Формат бумаги 60x84/16  
Бумага множ. Усл.печ.л. 6,81 Заказ № 161–Н Тираж 30

Редакционно-издательский отдел МГУДТ  
117997, Москва, ул. Садовническая, 33, стр.1  
e-mail: riomgudt@mail.ru

Отпечатано в РИО МГУДТ