

На правах рукописи

876 0Д

13 КЮН 2000

ЗАМЫСЛОВ ЭДУАРД ВИКТОРОВИЧ 

**СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА  
КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ  
ПОЛИДИМЕТИЛСИЛОКСАНА И ГРАФИТА**

—  
Специальность 02.00.04- физическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ-2000

Работа выполнена в Санкт-Петербургском Государственном Технологическом институте (техническом университете).

Научный руководитель: ОСТРОВИДОВА Галина Укеновна  
доктор химических наук

Научный консультант: КЛОЧКОВ Валерий Иванович  
кандидат технических наук, доцент

Официальные оппоненты:  
доктор химических наук, профессор БИБИК Ефим Ефимович  
доктор технических наук, профессор СИМОНОВ-ЕМЕЛЬЯНОВ  
Игорь Дмитриевич

Ведущая организация:  
Институт Высокомолекулярных соединений РАН


Защита диссертации состоится "15" июня " 2000., в 11<sup>30</sup> часов на заседании диссертационного совета К 063.25.09 в Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (техническом университете) по адресу: 198013, Санкт-Петербург, Московский пр., 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета).

Ваш отзыв в одном экземпляре, заверенный подписью и печатью, просим направить по указанному адресу.

Автореферат разослан "15" июня 2000.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук,  
доцент

 ИЗОТОВА Светлана Георгиевна

Л728.8,0

Л719.96:Р.0

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы:** Создание материалов с заданными свойствами является одним из важнейших направлений научно-технического прогресса. Это направление актуально для получения материалов медицинского назначения с высокой тромборезистентностью и общими медицинскими свойствами.

В настоящее время в медицинской практике используются синтетические полимерные материалы (полипропилен, полиэтилен, полисилоксан, полиэтилентерефталат и другие), поверхность которых не обладает достаточной тромборезистентностью. Среди синтетических полимеров наиболее широкое клиническое применение в медицине, а именно, в хирургии, нашел полисилоксановый каучук, благодаря таким положительным свойствам, как высокая эластичность, химическая, гидролитическая, ферментативная, радиационная устойчивость, биоинертность и нетоксичность. Однако, недостаточные тромборезистентные свойства полисилоксана вызвали необходимость их улучшения.

Одним из способов улучшения этого свойства полимера может быть объемное и поверхностное модифицирование, которое позволяет направленно формировать композиционный материал с заданными физико-химическими и медико-биологическими свойствами.

В ряде случаев заданные медико-биологические свойства могут быть сообщены материалу только благодаря присутствию углерода в качестве одного из компонентов. Высокая химическая устойчивость, тромборезистентность, хорошая совместимость с тканевыми и кровяными клетками позволяет успешно применять углеродные материалы в медицине. Однако, более широкому практическому использованию углерода в хирургии препятствует отсутствие технологий с помощью которых можно получить гибкие, эластичные изделия.

Перспективным методом повышения тромборезистентности является поверхностная модификация материала различного рода ферментами и антикоагулянтами, ингибирующими процесс тромбообразования.

При выборе материалов для медицины недостаточно учитываются физико-химические характеристики поверхности (поверхностный заряд,

структура, функциональный состав, значение поверхностной энергии). В многочисленных работах отмечаются данные по корреляции какого-нибудь одного свойства поверхности с биосовместимостью материала. Однако, отсутствуют данные о влиянии комплекса физико-химических характеристик поверхности на совместимость материала. Установленные закономерности такого влияния позволили бы осуществлять предварительный прогноз его медицинских свойств.

Таким образом, создание и исследование физико-химических и медико-биологических свойств углеродсодержащих тромборезистентных композиционных материалов на основе полисилоксанового каучука с использованием биологически активных веществ, а также разработка медицинских изделий на их основе является актуальной.

Диссертационная работа выполнялась в соответствии с планами НИР Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета) по научному направлению «Создание функциональных композитов для электроники методами химии твердых веществ» на 1994-1998 гг. (з-н 36-94 «Создание пленочных и надмолекулярных структур с применением вакуумных химических и электрохимических методов»).

**Цели и задачи исследования:** Целью настоящей работы является разработка углеродсодержащих композиционных материалов на основе полидиметилсилоксана и изучение влияния физико-химических характеристик поверхности на тромборезистентные свойства, а также изготовление медицинских изделий на их основе.

Для этого необходимо решить следующие задачи:

- получить композиционный материал на основе полисилоксана медицинской чистоты и очищенного графита С-1;
- исследовать физико-химические, механические и медико-биологические свойства полученного композиционного материала;
- сформировать на поверхности композиционного материала в электрическом поле гидрогелевые покрытия, содержащие биологически активные и лекарственные вещества;
- изучить влияние физико-химических свойств поверхности материала на его тромборезистентные свойства;
- разработать медицинские изделия на основе полученных композитов.

**Научная новизна** Изучена структура, электрические, механические, физико-химические и антитромбогенные свойства поверхности

композиционного материала на основе полисилоксана и графита. Установлена зависимость тромборезистентных свойств от значения свободной поверхностной энергии материала, электрического заряда поверхности, ее химического состава и присутствия биологически активных веществ.

На основании результатов определения электрофизических свойств и электронно-микроскопических исследований разработанного материала установлен цепочечный характер распределения графита в объеме и равномерный мозаичный на поверхности.

Экспериментально доказана возможность адгезионного совмещения гидрофобной и гидрофильной поверхностей на примере композиционного материала и поливинилспиртовых пленок.

Показана зависимость активности фермента и антибиотика от режима иммобилизации, радиационной стерилизации, присутствия пластификатора. Предложена схема ориентации молекулы иммобилизованного фермента на поверхности композиционного материала.

**Практическая ценность:** Получен новый композиционный материал медицинского назначения на основе полидиметилсилоксана и графита С-1.

Сформированы в электрическом поле на поверхности композиционного материала гидрогелевые покрытия с высокой биологической и антимикробной активностью и адгезией к подложке. Разработаны новые составы покрытий, содержащих антибиотик, фермент и глицерин.

Изготовлены изделия медицинского назначения, а именно, временные шунты, прокладки для протезирования суставов фаланг пальцев верхних конечностей. Медико-биологические испытания образцов материала на свертываемость нормальной плазмы крови, эксперименты в опытах *in vivo* на собаках по временному шунтированию а также клинические испытания эндопротезов, проведенные на базе СПбГМУ им. И.П. Павлова и НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена (Санкт-Петербург) показали, что материалы биосовместимы и не вызывают воспалительных реакций на окружающие ткани. Получены акт проверки и об использовании.

**Структура и объем работы:** Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов, списка литературы, приложений и содержит 125 страниц машинописного текста, 34 рисунка, 16 таблиц, 160 литературных источников.

**В первой главе** рассмотрены общие положения и состояние проблемы создания биосовместимых материалов и зависимости тромборезистентности от физико-химических свойств поверхности; **во второй** – свойства основных веществ; **в третьей**- методические вопросы физико-химической модификации полисилоксана в процессе приготовления композиционного материала; иммобилизация БАВ; **в четвертой** – методы исследования полученных образцов; **в пятой** - физико-химические и механические свойства поверхности объемно-модифицированного полисилоксана, механизм взаимодействия отдельных его ингредиентов, характер распределения графита в объеме и на поверхности, морфология поверхности; **в шестой** – иммобилизация биологически активных и лекарственных веществ на поверхности композиционного материала адсорбцией, в гидрогелевый слой и электроиммобилизацией, процессы формирования полифункционального поливинилспиртового слоя на поверхности КМ; свойства полученных покрытий; **в седьмой**- закономерности влияния физико-химических характеристик поверхности на тромборезистентность материала .

**Апробация работы:** Результаты работы докладывались на 5<sup>th</sup> European Polymer Federation Symposium on Polymeric Materials, Basel, Switzerland, 1994; 1 и 2 ой Международной конференции “ Химия высокоорганизованных веществ и научные основы нанотехнологии.” Июнь 1996, 1998. Санкт-Петербург; 10<sup>th</sup> Rolduc Polymer Meeting, Kerkrade, Netherlands. Май. 1997; Международный симпозиум “ Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов”. Октябрь, 1998. Минск; Всероссийский симпозиум “ Аморфные и микрокристаллические полупроводники”. Санкт-Петербург. Июль 1998. 6<sup>th</sup> European Symposium on Polymeric Blends. Mainz, Germany. May. 1999, 1-ая Всероссийская конференция “Химия поверхности и нанотехнология”. Санкт-Петербург-Хилово. Сентябрь 1999.

**Публикации:** По теме диссертации опубликовано 4 статьи и тезисы 9 докладов на Всероссийских и Международных научных симпозиумах и конференциях.

#### **Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись: полидиметилсилоксановый каучук медицинской чистоты (СКТВ-мед) и коллоидный графит марки С-1 (ОСТ 6-08-431-75), поливиниловый спирт -медицинский ( ТУ 605-05-26-75).

В качестве биологически активных соединений использовали протеолитический фермент-трипсин (Ленмяскомбинат), антикоагулянт-гепарин фирмы "Гедеон-Рихтер" и антибиотик-натриевую соль бензилпенициллина, комбинат "Красноярск-медпрепараты".

В соответствии с ГОСТ проводилась оценка физико-механических характеристик композиционного материала: предела прочности, относительного удлинения при разрыве, твердости, электрического сопротивления.

Физико-химические исследования исходных компонентов и композиционного материала проводили следующими методами: химико-аналитическими, адсорбционными, спектрофотометрическими, РФЭ- и ИК- спектроскопии, электронной микроскопии, рентгеноструктурным анализом и профилометрией.

Для оценки тромборезистентных свойств полученных материалов на основе СКТВ-мед и изделий из них, проводились испытания в Санкт-Петербургском Государственном Медицинском Университете им. акад. И.П. Павлова на свертываемость нормальной плазмы человека в опытах *in vitro*, *in vivo*, а также в НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена в клинических условиях.

## 1.Формирование композиционного материала

С целью получения композиционного материала полидиметилсилоксановый каучук (СКТВ-мед) смешивался на лабораторных вальцах при 20°С с перекисью дихлорбензоила (ПДХБ)-сшивающего агента, аэросилом, антиструктурирующей добавкой НД-8 и очищенным графитом С-1.

С целью удаления с поверхности загрязнений и минеральных примесей графит подвергался очистке кипячением в 1н. HCl в течение 2-х часов при температуре 70°С с последующей обработкой 20%-ной HF, затем отмывался от фтор-ионов соляной кислотой и далее дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод и сушился до постоянного веса при температуре 110°С.

Для усиления взаимодействия графита с СКТВ-мед поверхность графита обрабатывалась следующими способами: предварительно очищенный графит выдерживался в 2 %-ном водном растворе полиэтиленimina (ПЭИ, M.=10000) в течение 30 минут при температуре 25°С. Активация поверхности графита проводилась жидкофазным окислением последнего азотной кислотой в течении 2-х часов при температуре 80°С.

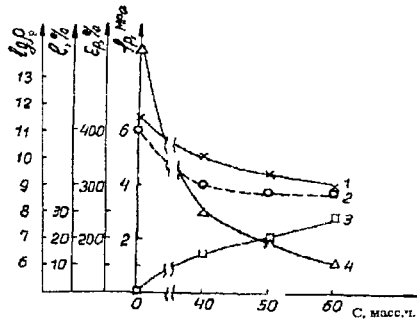
Образцы композиционного материала вулканизовались в виде пластин и трубчатых изделий следующими способами:

1. В глицерине при температуре 130-140°С
2. В воздушном термостате при температуре 130-140°С
3. Прессованием при температуре 120°С и давлении 150 кгс/см<sup>2</sup>

С целью удаления остатков ПДХБ, сформированные изделия термостатировали при температуре 200°С в течение 6-8 часов.

### 1.1. Механические и физико-химические свойства композиционного материала

Оптимальным содержанием графита в полимере является 50 массовых частей, при котором можно формировать материалы со следующими, приемлемыми для функциональных и технологических требований, характеристиками: относительное удлинение при разрыве  $\epsilon_p=280\%$ , остаточное удлинение  $l_p=20\%$  и условная прочность при разрыве  $f_p=4,5\text{МПа}$  (рис.1). Электропроводность полученного вулканизата увеличивается на 7-8 порядков по сравнению с исходными СКТВ-мед.



**Рис.1.** Физико-механические и электропроводящие свойства композита на основе СКТВ-мед и графита С-1.1-условная прочность при разрыве  $f_p$ , МПа; 2-относительное удлинение при разрыве  $\epsilon_p$ ,%; 3-остаточное удлинение  $l_p$ ,%; 4-удельное объемное электрическое сопротивление  $lg \rho_p$ .

Как показали результаты изучения материала методом ИК- и РФЭ-спектроскопии, гетерогенное взаимодействие графита и полимера имеет физическую природу. Предварительная очистка и окисление графита не влияют на характер взаимодействия его с полимером.

Заметное влияние на взаимодействие между графитом и СКТВ-мед и, следовательно, на физико-механические и электропроводящие свойства оказывает обработка графита раствором ПЭИ. Образцы имеют высокие значения остаточного удлинения (13 %). Однако, величина удельного объемного сопротивления вулканизата возрастает на 1-2 порядка, что по-видимому, связано с изоляцией частиц графита в присутствии ПЭИ.



Экспериментальные данные по электропроводности материала позволили установить, что распределение графита в объеме полимера имеет цепочечный характер. Мозаичное и равномерное распределение частиц графита на поверхности композита доказано электронно-микроскопическими исследованиями. Композиционный материал обладает отрицательным поверхностным зарядом (за счет присутствия графита), гетерогенной структурой поверхности, обусловленной чередованием областей полимера и частиц графита и более высокими значениями свободной поверхностной энергией ( 28-31,2 мДж/м<sup>2</sup> ) по сравнению с исходным полимером (18-20 мДж/ м<sup>2</sup> ).

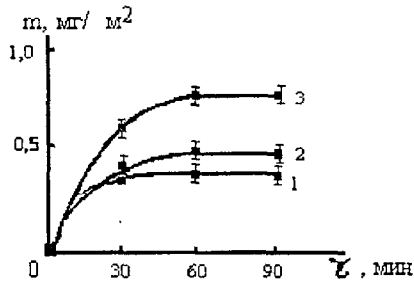
Функциональный состав поверхности полимера существенно меняется при его наполнении графитом, на поверхности которого имеются карбоксильные, карбонильные и гидроксильные группы.

Способ и режим вулканизации влияет на такие физико-механические характеристики материала, как  $\epsilon_r$ ,  $I_p$ ,  $f_p$ , электропроводность материала, морфологию поверхности. По сравнению с методом вулканизации на воздухе, материалы, сформированные в глицерине и в прессе, обладают низкой электропроводностью и механическими свойствами. Высота неровностей  $R_z$ , характеризующая шероховатость, а также количество и размеры дефектов поверхности не превышает 2-3 мкм.

## 1.2.Адсорбция трипсина на поверхности композита

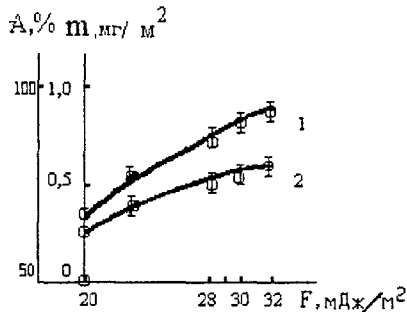
При контакте биологической среды с чужеродной поверхностью происходит, в первую очередь, адсорбция белков, характер которой в основном определяет биосовместимость изделия. В связи с этим детальное изучение процесса адсорбции является важным для прогнозирования активности, а значит и в оценке биосовместимости материала.

На рис.2. представлены кинетические кривые, характеризующие адсорбцию трипсина на поверхности композиционного материала ( с различным содержанием графита ) и исходного полисилоксана. Заряд поверхности материала повышается с увеличением содержания графита в полимере, и следовательно, сила электростатического взаимодействия



**Рис.2.** Кинетика адсорбции трипсина на поверхности КМ.  
1-исх. СКТВ-мед; 2-КМ с содержанием графита 20 масс.ч.; 3-КМ с содержанием графита 50 масс.ч.

между ферментом и поверхностью, а значит и количество адсорбированного трипсина также увеличивается. Однако, его активность сохраняется высокой. По-видимому, это можно объяснить тем,



**Рис.3.** Зависимость количества и активности адсорбированного трипсина от значения свободной поверхностной энергии материала. 1-количество; 2-активность;

20 мДж/м<sup>2</sup> - СКТВ-мед; 28 мДж/м<sup>2</sup> - КМ с содержанием графита 40 масс.ч.; 32 мДж/м<sup>2</sup> - КМ с содержанием графита 50 масс.ч.

что композиционный материал обладает более высоким значением свободной поверхностной энергией (рис.3) и молекула адсорбированного фермента приобретает на поверхности определенную конформацию и ориентацию, которая позволяет сохранить ей наибольшее количество активных центров. По результатам исследования РФЭ-спектров установлена схема ориентации молекулы фермента (рис.4). Однако,

возможно не все фрагменты молекулы фермента ориентированы подобным образом, поскольку последняя обладает сложной мозаичной структурой поверхностного слоя и образует с разными участками поверхности композиционного материала различные типы связей.

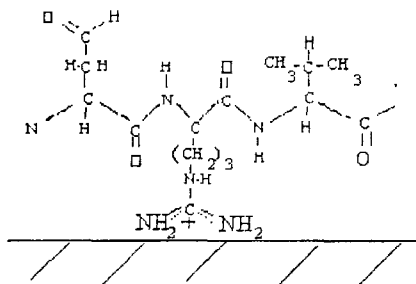


Рис. 4. Схема ориентации молекулы трипсина на поверхности КМ.

Таким образом, можно предположить, что существуют определенные корреляции между активностью адсорбированного фермента и перечисленными выше физико-химическими свойствами поверхности материала (значением свободной поверхностной энергии, зарядом поверхности) и с биосовместимостью материала.

## 2. Поверхностное модифицирование композиционного материала электроформированием полифункциональных полимерных покрытий

Формирование полимерных покрытий проводили из следующих составов: поливиниловый спирт и фермент; ПВС и гепарин; ПВС и антибиотик; ПВС, антибиотик и фермент. В качестве сшивающего агента использовали (глутаровый альдегид) ГА или борную кислоту. Для обеспечения пластичности формируемых покрытий в состав композиции добавляли глицерин.

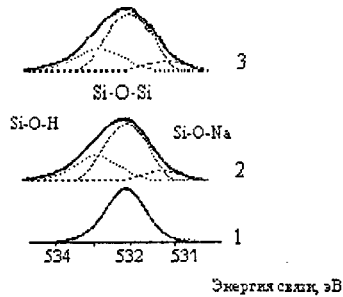
При создании композиционных материалов медицинского назначения необходимо учитывать взаимодействие, связанное с совместимостью его компонентов с различными поверхностными свойствами (например, полимер-полимер, полимер-углерод, полимер-металл). Поэтому, рассматривался вопрос адгезионного взаимодействия гидрофобной поверхности композиционного материала на основе

полисилоксана медицинской чистоты и гидрофильного поливинилового спирта(ПВС).

С целью увеличения адгезии гидрофильного материала к гидрофобной поверхности композита проводилась предварительная обработка последнего 5 и 10 М водным раствором NaOH в течение 2 часов при температуре 70°C, а также водным раствором полиэтиленimina (ПЭИ). Затем образцы промывали дистиллированной водой и сушили при комнатной температуре в течение 24 часов.

Результаты исследований адгезии показали, что предварительная обработка ПЭИ и NaOH композиционного материала значительно повышает адгезию ПВС покрытия к его поверхности .

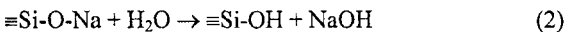
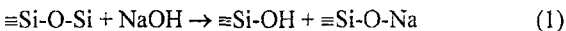
С целью установления причин, способствующих увеличению совместимости гидрофобной и гидрофильной поверхностей, образцы материалов изучались методом РФЭС. РФЭС-спектры поверхности композиционного материала, обработанной 5 М раствором NaOH представлены на рис.5. Для всех образцов наблюдается пик при E=532 эВ, относящийся к  $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$  связи (рис.5, позиция1). После обработки раствором NaOH появляются новые пики при E=533 и 531 эВ , которые относятся к  $\equiv\text{Si-OH}$  и  $\equiv\text{Si-O-Na}$  группам (рис.5, позиция 2).



**Рис.5.** РФЭС-спектры композиционного материала .

1-исходный КМ; 2- после обработки NaOH; 3-с ПВС покрытием

В ходе 2-х часовой обработки композиционного материала на его поверхности предложены следующие реакции:



Таким образом, появление реакционноспособных гидроксильных групп на поверхности композита в результате предварительной обработки раствором NaOH и, как следствие, повышение гидрофильности, а также увеличение электропроводности материала, позволяют, не изменяя физико-механических свойств подложки, обеспечить совместимость компонентов с различными поверхностными свойствами.

## **2.1. Полифункциональные гидрогелевые покрытия и их свойства**

Данные по зависимости массы и толщины покрытия от напряженности электрического поля показали, что равномерное покрытие с прочным сцеплением с подложкой получается проведением процесса электроформирования при напряженности электрического поля  $E=30$  В/см и переменном знаке заряда покрываемого электрода. При  $E=20$  В/см покрытие тонкое и неравномерное. Тогда как при  $E=40$  В/см и более наблюдается интенсивное увеличение массы и толщины покрытия, сопровождающееся газовыделением, что приводит к формированию пористого и неравномерного покрытия.

Для сохранения высокой активности трипсина (90%) в пленке, процесс ее формирования следует проводить в электрическом поле инфранизкой частоты в режиме сигнала типа «меандр» при напряженности электрического поля 30 В/см. Низкая активность фермента при напряжении менее 30 В/см можно объяснить тем, что при малых значениях напряженности электрического поля молекула фермента не успевает развернуться и принять конформацию, при которой активные центры наиболее доступны. При значении напряженности электрического поля свыше 30 В/см, время адсорбции молекулы фермента на поверхности материала намного выше, чем время ее разворачивания, вследствие чего ее активные центры, по-видимому, экранированы.

Соиммобилизация с натриевой солью бензилпенициллина приводит к снижению активности трипсина, но вместе с тем увеличивается его термостабильность, вероятно, благодаря стабилизации структуры молекулы фермента за счет образования дополнительных внутри или межмолекулярных связей, что позволяет проводить процесс термообработки при  $50^{\circ}\text{C}$  и, следовательно, улучшить механические характеристики покрытия. Кроме того, использование трипсина совместно с антибиотиком является более эффективным с точки зрения устойчивости к действию микроорганизмов. Очевидно, что по сравнению с общим положительным эффектом при соиммобилизации трипсина с бензилпенициллином снижение ферментативной активности пленки на 10 % не является существенным.

Для иммобилизованных ферментов, применение которых планируется в медицинских целях, важное значение имеет устойчивость к ионизирующему облучению, поскольку такой вид стерилизации получил в последнее время широкое применение. С целью изучения

влияния радиационной стерилизации на активность как иммобилизованного в полимерном гидрогелевом покрытии, так и нативного трипсина образцы подвергали гамма-облучению (табл.1).

таблица 1

Влияние  $\gamma$ -облучения на активность трипсина

Поглощенная доза обл., кГр	Активность нативного сухого трипсина, %	Активность нативного трипсина в растворе, %	Активность иммобилизованного трипсина, %
0	100	100	100
5	100	4	52
10	96	0	28
25	85	0	9
100	74	0	0

Снижение активности трипсина иммобилизованного в полимерном слое ПВС (табл.1), по-видимому, связано с взаимодействием трипсина с продуктами радиолиза воды, которое приводит к конформационным изменениям., поскольку условия сушки при 40-50° С не позволяют полностью удалить влагу из материала. Однако, при стерилизующей дозе 4-5 кГр иммобилизованный фермент сохраняет до 52 % активности, что свидетельствует о достаточно высоком уровне радиационной резистентности полученных препаратов и возможности их применения в медицинских целях после гамма-стерилизации.

Современные требования к материалам медицинского назначения вызвали необходимость создавать материалы, которые обладают как специальными биоактивными свойствами, необходимыми для конкретного применения, так и антимикробными свойствами. С этой целью сформированы ПВС покрытия, обладающие такими свойствами (табл.2). Небольшое снижение антимикробной активности покрытий с натриевой солью бензилпенициллина, наблюдаемое после гамма-стерилизации, можно объяснить некоторой дезориентацией или частичной радиационной сшивкой функциональных групп антибиотика (табл.2.).

Для установления пролонгированности действия иммобилизованных активных веществ были проведены исследования кинетики десорбции их из полученных покрытий. Десорбция проводилась в дистиллированной воде при температуре 36-38° С.

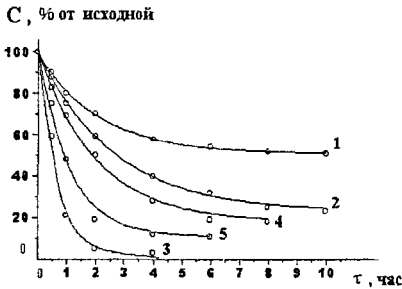
Зависимость процентного содержания активных веществ в покрытии от времени десорбции приведены на рис.6. Характер десорбции активных

Таблица 2

**Антимикробные свойства композиционного материала**

Состав покрытий	Метод формирования покрытий	Содерж. Антибиотика в покрытии, %вес	Ширина зоны подавления роста микроорганизмов, мм	
			без $\gamma$ -облуч	После $\gamma$ -облуч
ПВС, $H_3BO_3$ , глицерин	Электр.поле 30В/см, 0,5мин	0	10	10
ПВС, $H_3BO_3$ , антибиотик	—//—	3	36,3	34,6
ПВС, $H_3BO_3$ , глицерин, антибиотик	—//—	3	34,7	32
ПВС, $H_3BO_3$ , глицерин, антибиотик	—//—	2	30,6	26,3
ПВС, $H_3BO_3$ , глицерин, антибиотик	Импрегнация 120 мин.	1,5	25	22,5
Антибиотик нативный		100	>50	>50

веществ из ПВС покрытия указывает на длительность выхода антикоагулянта и фермента, что говорит о пролонгированности действия полученных материалов (6-8 часов). Поскольку активные вещества не выходят из покрытия полностью, то можно предположить, что в реальных условиях движения крови и размывания гидрогелевого ПВС слоя, антитромбогенная активность материала сохранится и после десорбции основной части препаратов. Использование ГА в качестве сшивающего агента снижает степень выхода БАВ из покрытия (рис.6). Количество БАВ, иммобилизованного путем электроиммобилизации за 1 мин практически равно количеству БАВ, иммобилизованного адсорбцией



**Рис.6.** Кинетика десорбции активных веществ из покрытия.

1,2-гепарин, иммобилизованный в электрическом поле ( сшивающий агент глутаровый альдегид -1;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  -2 ) за 60 с.; 3-гепарин, иммобилизованный адсорбцией за 1 час.; 4-трипсин, иммобилизованный в электрическом поле за 1 час ( сшивающий агент  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ) за 60 с.; 5-трипсин, иммобилизованный адсорбцией за 1 час.

за 30- 60 мин. Активность и количество фермента, иммобилизованного адсорбцией значительно ниже. Получение высокоактивных поверхностей иммобилизацией в электрическом поле обусловлено тем, что при приложении электрического поля скорость нанесения покрытия на носитель возрастает на порядок. Большое количество фрагментов молекулы фермента за счет адсорбционных, электростатических и дисперсионных сил приобретает ориентацию на поверхности композита, предложенную ранее (рис.4), при которой сохраняется наибольшее количество активных центров.

### **3.Физико-химические аспекты влияния характеристик поверхности материала на его тромборезистентность**

Физико-химические характеристики материала существенно влияют на его взаимодействие с биологическими системами. Поэтому, было проведено исследование такого влияния поверхности полученных материалов на их тромборезистентность. На рис. 7 представлены результаты тестирования нормальной плазмы крови полученных материалов: полисилоксан ненаполненный, композиционный материал (50 масс.ч.), графит и композиционный материал с поливинилспиртовым покрытием, содержащим биологически активные вещества. Тест отражает суммарную активность ведущих факторов свертывания при введении в систему тромбопластина (аналога тромбоцита) и называется активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ). Область



между пунктирными линиями соответствует значениям АПТВ нормальной плазмы крови.

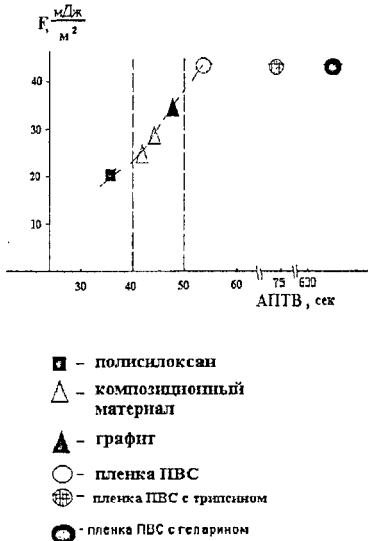


Рис.7. Влияние значений свободной поверхностной энергии материала на тромборезистентные свойства.

Чем больше время АПТВ, тем более высоким уровнем тромборезистентности обладают материалы. При тестировании, в преобладающем случае получены нормальные показатели (область между пунктирными линиями, рис.7) АПТВ для следующих материалов: композиционный материал, содержащий различные концентрации графита, графит и композиционный материал с ПВХ-покрытием, содержащим различные биологически активные вещества, т.е. указанные образцы обладают тромборезистентностью.

По результатам тестирования тромборезистентными свойствами обладают материалы со значениями свободной поверхностной энергии 28-42 мДж/м<sup>2</sup>. Высокую антитромбогенность композиционных материалов с содержанием графита (50 масс.ч.,рис.7) можно объяснить наличием отрицательного поверхностного заряда, содержанием на поверхности таких функциональных групп, как карбоксильные, гидроксильные и карбонильные, обусловленных присутствием частиц графита в полимере. Следовательно, приведенные выше характеристики имеют глубокую связь с кровосвертывающей способностью материала. Знание закономерностей влияния комплекса перечисленных выше свойств на тромборезистентность позволит делать предварительный прогноз совместимости материала с живыми тканями организма.

Использование геларина, трипсина не изменяют перечисленные выше физико-химические характеристики поверхности материала, но значительно замедляют процесс свертывания крови (время свертывания бесконечно долгое- практически неопределимо) (рис.7).

Таким образом, доказана возможность формирования композита с использованием графита в качестве модификатора с более высокими тромборезистентными свойствами, сохраняя уникальные механические свойства полисилоксанового каучука. Дополнительное формирование на его поверхности в электрическом поле полифункциональных гидрогелевых покрытий, содержащих БАВ обеспечивают пролонгированную тромборезистентность. Время свертывания плазмы практически неопределимо.

#### 4. Испытания изделий в опытах *in vivo* и в клинических условиях

Полученный материал в виде изделий (хирургических шунтов длиной 200-400 мм и диаметром 3,6,8 мм) был апробирован в опытах *in vivo* для временного шунтирования брюшной аорты собаки. Тромбообразования не наблюдалось в течении 3-х и более часов.

Разработанный материал в виде прокладок был использован для протезирования суставов фаланг пальцев верхних конечностей людей на базе Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена. (Акт об использовании).

### ВЫВОДЫ

1. Установлено влияние на тромборезистентные свойства материала свободной поверхностной энергии, знака заряда поверхности, ее химического состава. Доказано, что тромборезистентные свойства материала повышаются, если значение его свободной поверхностной энергии находится в интервале 28-42 мДж/м<sup>2</sup>, если его поверхности придать отрицательный заряд. Присутствие карбоксильных гидроксильных, карбонильных групп на поверхности композиционного материала, обусловленных равномерным распределением частиц графита на ней, также являются факторами более высокой тромборезистентности композиционного материала. Установленные физико-химические закономерности позволяют делать предварительный прогноз тромборезистентных свойств материала.
2. На основании результатов определения электрофизических и электронно-микроскопических исследований разработанного материала установлен цепочечный характер распределения графита и объеме и равномерный мозаичный на поверхности.
3. Исследован процесс адсорбции трипсина на поверхности композиционного материала. Показана зависимость протеолитической активности фермента от концентрации графита в полимере и значении поверхностной энергии. Наблюдается более высокая активности

иммобилизованного фермента на поверхности композиционного материала, обладающего отрицательным зарядом, значением поверхностной энергии 28-42 мДж / м<sup>2</sup>. Предложена схема ориентации молекулы адсорбированного фермента на поверхности композиционного материала, при которой сохраняется до 76 % активности белка.

4. Экспериментально доказана возможность адгезионного совмещения гидрофобной и гидрофильной поверхностей на примере композиционного материала и поливинилспиртовых пленок путем предварительной обработки КМ растворами NaOH и ПЭИ.
5. Определены оптимальные режимы формирования в электрическом поле ( $E = 30$  В/см,  $\tau = 0,5-1$  мин.) на поверхности КМ полимерных покрытий с высокой биологической активностью (86 %), тромборезистентностью, устойчивых к воздействию радиационной стерилизации, с пролонгированным действием биологически активных и лекарственных веществ, высокой адгезией к подложке. Разработаны новые составы, содержащие фермент, глицерин и антибиотик.
6. Разработанный композиционный материал медицинского назначения имеет следующие физико-механические характеристики: прочность при разрыве 4,5 МПа, относительное удлинение 280%, остаточное удлинение 20%, удельное объемное электрическое сопротивление  $10^6 - 10^7$  Ом\*м.
7. На основе синтезированного композиционного материала изготовлены изделия для хирургии, а именно, временные шунты различных диаметров и прокладки для протезирования суставов фаланг пальцев верхних конечностей. Медико-биологические испытания образцов материала на свертываемость нормальной плазмы крови, эксперименты в опытах *in vivo* на собаках по временному шунтированию а также клинические испытания эндопротезов, проведенные на базе С-ПБГМУ им. И.П. Павлова и НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена (Санкт-Петербург) показали, что материалы биосовместимы и не вызывают воспалительных реакций на окружающие ткани. Получены акт проверки и об использовании.

#### ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Zamyslov E.V., Klochkov V.I., Ostrovidova G.U. Properties of a Composite Material for Medical Application based on Polysiloxane Rubber // Russian Journal of Applied. Chemistry. New York. Vol.70, №7, 1997, pp. 1150-1152.
2. Zamyslov E.V., Klochkov V.I., Ostrovidova G.U. Composite material for medical application // J. Macromol. Symp. 1998, T. 127. P.P. 205-209.
3. Буева О.А., Замыслов Э.В., Островидова Г.У. Тромборезистентные свойства нового углеродсодержащего композиционного материала. // В кн. Патофизиология микроциркуляции и гемостаза. Изд-во: СПб МГУ им. акад. И.П. Павлова, 1998. С. 447-453.

4. Ostrovidova G.U. , Makeev A.V., Zamyslov E.V., Asta. Richter, Terukov E.I. Research of Properties of Polyfunctional Polymeric Films// J. Macromol. Symp.,1998.-Т.136.-Р.Р.131-137.
5. Ostrovidova G.U., Zamyslov E.V. Physico-chemical foundations for prognostication of the properties of the materials for medical application// Thesis of 5 th European Polymeric Symposium for Polymer Materials. Basel. Switzerland. Oct.1994.P.222.MMT 01.
6. Замыслов Э.В., Makeев А.В.,Клочков В.И., Островидова Г.У. Химическое конструирование композиционных материалов на основе полисилоксанов//Тезисы доклада 1-ой Международной конференции "Химия высокоорганизованных веществ". СПб.Июнь 1996.С.445-447.
7. Zamyslov E.V., Klochkov V.I., Ostrovidova G.U. Composite material for medical application //Thesis of 10 th Rolduc Polymer Meeting, Kerkrade. The Netherlands,1997. С.49.
8. Makeev. A.V., Zamyslov E.V., Ostrovidova G.U. Electroformation of the thromboresistant polymeric films// Thesis of 10 th Rolduc Polymer Meeting, Kerkrade. The Netherlands,1997. С. 75.
9. Островидова Г.У., Makeев А.В., Замыслов Э.В., Аста Рихтер, Теруков Е.И. Исследование свойств полифункциональных пленочных полимерных покрытий//Тезисы доклада 2-ой Международной конференции "Химия высокоорганизованных веществ". Июнь,1998.СПб.С.123.
- 10.Островидова Г.У., Makeев А.В., Замыслов Э.В.,Юркштович Т.Л. Исследование свойств лекарственных пленочных полимерных материалов// Тезисы доклада Международного симпозиума " Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов. Минск.Октябрь.1998. С.58.
- 11.Островидова Г.У., Теруков Е.И., Валова Т.А., Замыслов Э.В., Makeев А.В., Романовская Е.Н., Аста Рихтер. Композиционный углеродсодержащий материал медицинского назначения // Тезисы доклада Всероссийского симпозиума " Аморфные и микрокристаллические полупроводники. СПб. Июль.1998. С.151.
12. Ostrovidova G.U., Zamyslov E.V. Some aspects of compatibility of hydrophobic and hydrophilic materials //Thesis of 6<sup>th</sup> European Symposium on Polymeric Blends. Mainz, Germany. May. 1999.P.153.
13. Makeев А.В., Замыслов Э.В., Островидова Г.У. Электроформирование лекарственных полимерных пленок // Тезисы доклада 1-ой Всероссийской конференции "Химия поверхности и нанотехнология". Санкт-Петербург-Хилово. Сентябрь 1999.С. 143-144.