

СВОЙСТВА ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНОВЫХ ГЕЛЕЙ ПОСЛЕ СТЕРИЛИЗУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

О.А. Легонькова

д.т.н.,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)
E-mail: Legonkova@ixv.ru

В.Г. Васильев

д.х.н.,
ФГБУ «Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова» Российской академии наук (Москва)

С.А. Божкова

д.м.н.,
ФГБУ «Российский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России (Санкт-Петербург)

Р.П. Терехова

к.м.н.,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

А.С. Оганнисян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

М.М. Григорьев

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

Т.И. Винокурова

к.т.н.,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

А.М. Чилилов

к.м.н.,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

Б.Г. Ахмедов

д.м.н.,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России (Москва)

Цель исследования – изучение влияния разных источников и различных доз излучения на реологические и антибактериальные свойства систем на основе поливинилпирролидона (ПВП), используемых в дальнейшем в травматологии и ортопедии для профилактики и лечения перипротезной инфекции. Исследованы реологические и антибактериальные свойства гидрогелей, которые потенциально применимы для локальной антимикробной терапии в ортопедии и травматологии. Локальным носителем лекарственных препаратов является гидрогель на основе биodeградируемого полимера (ПВП). В качестве лекарственных средств использованы гентамицин и фосфомицин. Полимерная матрица в форме геля получена в результате облучения водного раствора ПВП γ -лучами (Co^{60}) и воздействия потока ускоренных электронов (УЭ). Установлено, что γ -излучение оказывает более эффективное влияние на процесс сшивки ПВП, чем УЭ-излучение. Определен способ облучения исходных растворов, эффективно влияющего на вязкость гелей. Изучена температурная зависимость реологических свойств системы. Показано, что эффективность реакции сшивания макромолекул зависит от состава облучаемой системы. Присутствие лекарственных средств в системе ингибирует процесс сшивания. Антимикробная активность образцов сохраняется, независимо от концентрации ПВП в системе, вязкости образцов, порядка введения компонентов в систему, а также источника и дозы излучения.

Ключевые слова: поливинилпирролидон, перипротезное воспаление, гентамицин, фосфомицин, вязкость, антимикробные свойства.

Для цитирования: Легонькова О.А., Васильев В.Г., Божкова С.А., Терехова Р.П., Оганнисян А.С., Григорьев М.М., Винокурова Т.И., Чилилов А.М., Ахмедов Б.Г. Свойства поливинилпирролидоновых гелей после стерилизующих воздействий. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(11):19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-03>

Несмотря на современные профилактические и санитарно-гигиенические меры, инфекция, связанная с имплантатами, остается одной из ведущих причин неудач в ортопедии и травматологии, что ведет к высоким социально-экономическим затратам.

Различные технологии антибактериального покрытия доказали свою безопасность и эффективность как в доклинических, так и в клинических условиях, и в зависимости от типа покрытия способны предупредить до 90% послеоперационных инфекций. Согласно современным представ-

лениям, решение проблемы происходит по нескольким направлениям [1]:

пассивная обработка/модификация поверхности: предотвращает или снижает бактериальную адгезию к имплантатам за счет изменения физико-химических свойств поверхности имплантата без использования какого-либо фармакологически активного вещества;

активная обработка/модификация поверхности фармакологически активными бактерицидными агентами, высвобождающимися для снижения бактериальной адгезии (например, покрытия, содержащие серебро или йод);

применение локальных носителей или покрытий во время операции непосредственно перед установкой имплантата, которые могут обладать синергидной антибактериальной и антиадгезивной активностью и доставлять высокие концентрации антибиотиков или других антибактериальных агентов непосредственно в перипротезную область.

Локальными носителями лекарственных препаратов могут являться биodeградируемые полимерные матрицы в любом исполнении – гели, губки, пленки. Несмотря на достаточно широкий выбор полимерных материалов и форм их применения, с точки зрения профилактики перипротезной инфекции интересны гели, позволяющие покрыть поверхность ортопедического имплантата любой формы. Наибольший интерес представляют биodeградируемые гидрогели на основе поливинилпирролидона (ПВП), широко применяемого в фармацевтической промышленности [2].

Одним из методов синтеза и модифицирования свойств полимеров является использование излучения с высокой энергией волны. При радиационном воздействии в результате химических реакций между макромолекулами полимера могут быть получены гели со специфическими свойствами, необходимыми в различных сферах применения [3]. Преимущество такого подхода заключается в исключении химических инициаторов, зачастую не разрешенных к использованию, когда речь идет о медицинских изделиях. Также радиационное воздействие позволяет получить стерильный продукт на стадии его изготовления, избежав дополнительной стадии стерилизации в общем технологическом процессе.

Цель исследования – изучение влияния разных источников и доз излучения на реологические и антибактериальные свойства си-

стем на основе ПВП, используемых в дальнейшем в травматологии и ортопедии для профилактики и лечения перипротезной инфекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали ПВП с молекулярной массой (ММ) 30 кДа, а также водные растворы с концентрациями 10, 15 и 30 масс.%. В качестве лекарственных препаратов использовались: гентамицин с концентрацией 1,2 масс.% и фосфомицин с концентрацией 5 масс.%. Для радиационной сшивки применяли ионизирующее излучение: γ -излучение (Co^{60}) и ускоренные электроны (УЭ) в дозах 15 (стандартная доза стерилизации медицинских изделий) и 30 кГр.

Средневязкостную молекулярную массу ПВП (MM_{η}) определяли вискозиметрическим методом с помощью капиллярного вискозиметра Уббелодде при 25 °С. Готовили разбавленные растворы ПВП в дистиллированной воде с концентрацией 0,5–5 г/100 мл. Расчет MM_{η} проводили по уравнению Марка–Куна–Хаувинка $\eta = K \times M_m^{\alpha}$ со значениями констант: $K = 0,000565$ дл/г; $\alpha = 0,55$ [4].

Исследования динамической вязкости выполняли на ротационном вискозиметре Brookfield DV2T. Среднестатистическая ошибка составляла не более 10%.

Антимикробную активность образцов определяли по методу диффузии в агар [5]. В качестве тест-культур использовали: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Критерием оценки антимикробной активности служил диаметр зоны подавления роста микрофлоры.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Водные растворы ПВП с концентрациями 10, 15 и 30 масс.% были подвергнуты облучению γ -лучами (Co^{60}) и воздействию УЭ. В качестве основных характеристик сравнения полученных систем выбраны динамическая и характеристическая вязкости.

Данные по изменению значений динамической вязкости растворов ПВП, в зависимости от источника излучения и концентрации исходного раствора полимера, представлены в табл. 1 и на рис. 1.

Зависимости вязкости от скорости сдвига для образцов ПВП с разной концентрацией и воздействия разной дозой и видом облучения носят характерный вид как для ньютоновских, так и неньютоновских жидкостей.

Таблица 1. Эффективная вязкость систем на основе ПВП после воздействия УЭ и γ -излучения (Co^{60}) при скорости сдвига 10^3 c^{-1}

Образец	Эффективная вязкость, Па·с				
	Контроль (необлученный образец)	γ -Излучение (Co^{60})		УЭ	
		15 кГр	30 кГр	15 кГр	30 кГр
10% ПВП	0,010	0,02	2,10	–	–
15% ПВП	0,015	0,02	5,70	0,01	0,03
30% ПВП	0,100	-	1,50	0,20	0,20

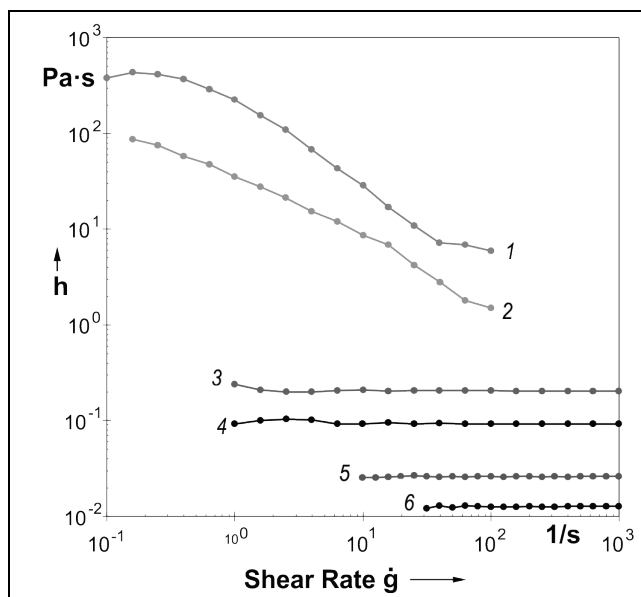


Рис. 1. Кривые изменения динамической вязкости образцов ПВП в зависимости от скорости сдвига и дозы облучения: 1 – 15% ПВП, Co^{60} , 30 кГр; 2 – 30% ПВП, Co^{60} , 30 кГр; 3 – 30% ПВП, УЭ, 30 кГр; 4 – 30% ПВП, контроль; 5 – 15% ПВП, УЭ, 30 кГр; 6 – 15% ПВП, контроль

Таблица 3. Гидродинамические параметры образцов ПВП, облученных УЭ

Образец	Доза облучения УЭ, кГр	Гидродинамические параметры	
		$[\eta]$, дл/г	MM_n , кДа
ПВП исходный	–	0,2	30
15% ПВП	15	0,3	100
	30	0,5	200
30% ПВП	15	0,3	100
	30	0,5	>200

При этом γ -облучение (Co^{60}) в дозах, превышающих 15 кГр, способствует более эффективно повышению вязкости по сравнению с УЭ. Так, вязкость 15 масс.-%-ного исходного раствора ПВП при воздействии γ -излучения (Co^{60}) дозой 30 кГр

возрастает практически в 400 раз (от 0,015 до 5,70 Па·с), в то время как вязкость того же образца при УЭ увеличивается лишь в 2 раза. Такой результат подтверждается и литературными данными о том, что для получения гидрогелей в формоустойчивом виде на основе ПВП из водного раствора необходима доза облучения не менее 20 кГр [3].

Увеличение концентрации ПВП не привело к значительному увеличению вязкости. Обращает на себя внимание то, что после воздействия γ -излучения (Co^{60}) дозой 30 кГр вязкость 30% ПВП была ниже, чем в случае 15% ПВП, а после испытаний происходило выделение воды из геля, что можно объяснить явлениями синерезиса под воздействием механического поля [6].

Эффективная вязкость облученных образцов ПВП с концентрациями 15 и 30% сильно зависит от величины скорости сдвига, что свидетельствует о неньютоновском характере течения. При этом в интервале скоростей сдвига $0,1-10^3 \text{ 1/c}$ величина вязкости уменьшается на 2 десятичных порядка, вследствие разрушения структуры геля под действием механического поля. Степень деструкции составляет десятки раз, при этом системы обладают тиксотропностью.

Для образцов, облученных УЭ, с линейным характером зависимости вязкости от скорости сдвига, были определены значения MM_n (табл. 3).

Согласно полученным данным, происходит увеличение характеристической вязкости в 1,5 раза при дозе облучения 15 кГр и в 2,5 раза – при дозе 30 кГр в сравнении с необлученным ПВП, как в концентрации ПВП 15 масс.%, так и 30 масс.%. Таким образом, в растворах с небольшой концентрацией ПВП при невысоких дозах облучения происходит увеличение MM_n .

При добавлении лекарственных препаратов к растворам ПВП и их последующем облучении динамическая вязкость систем изменялась незначительно (табл. 4).

Таблица 4. Изменение эффективной вязкости систем на основе ПВП, содержащих лекарственные препараты, после воздействия γ -излучения (Co^{60}) (при скорости сдвига 10^3 1/с)

Состав образца			Эффективная вязкость, Па·с	
Концентрация ПВП, %	Содержание фосфомицина, %	Содержание гентамицина, %	Исходный образец	Образец после облучения 30 кГр
10	–	–	0,010	2,100
	–	1,2	0,010	0,010
	5	–	0,010	0,030
	5	1,2	0,010	0,010
15	–	–	0,015	5,700
	–	1,2	0,015	0,020
	5	–	0,015	0,020
	5	1,2	0,015	0,150

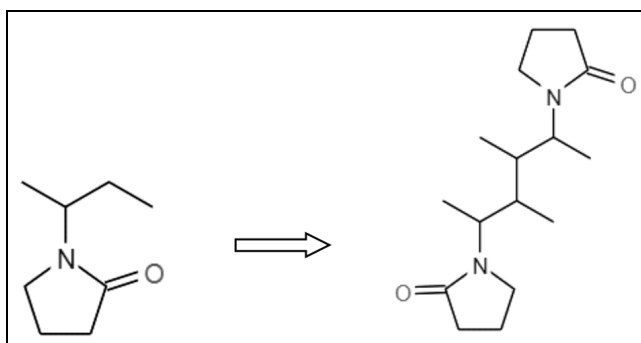


Рис. 2. Схема процесса сшивания макромолекул ПВП

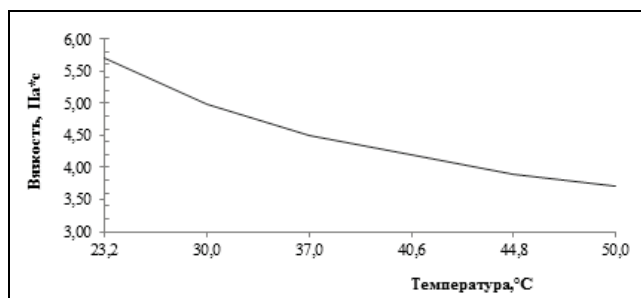


Рис. 3. Зависимость вязкости 15 масс.% ПВП, облученного γ -лучами с интенсивностью 30 кГр, от температуры

Визуально трехкомпонентные системы с вязкостью от 5,0 до 20,0 Па·с представляют собой форму неустойчивого геля. Системы с более низкой вязкостью (до 1 Па·с) можно отнести к структурированным растворам. Системы с вязкостью более 20 Па·с обладают устойчивой формой. Для практического применения оптимальными являются системы с вязкостью от 1 до 20 Па·с. Таким образом, гель 15 масс.% полимера после облучения γ -лучами с интенсивностью 30 кГр обладает

необходимыми технологическими свойствами, в то время как аналогичная по концентрации полимера система с добавлением лекарственных препаратов и последующей обработкой не достигает необходимой вязкости. Очевидно, что лекарственные препараты, содержащие в своем составе ряд активных функциональных групп, являются ингибиторами процесса сшивки полимерной матрицы.

В связи с этим и поскольку системы обладают тиксотропностью, принято решение изменить порядок приготовления конечной системы: на начальной стадии провести процесс сшивания 15 масс.% раствора ПВП (рис. 2) без добавления лекарственных добавок под действием γ -лучей с интенсивностью 30 кГр, а затем ввести их в систему.

После облучения были добавлены гентамицин (1,2 масс.%) и фосфомицин (5 масс.%). Повторное измерение вязкости образцов через сутки после добавления лекарственных средств в систему не показало значительных изменений этой характеристики, что удовлетворяет целям данной работы.

Из исследованных систем наибольший интерес представляет система на основе 15 масс.% ПВП. Для оценки ее поведения в температурном диапазоне эксплуатации было исследовано изменение вязкости раствора в пределах 23–50 °C (рис. 3). Согласно полученным результатам, значения вязкости с увеличением температуры падают (что ожидаемо), но остаются в интересующей нас зоне эксплуатации.

Изменение порядка получения гелеобразной структуры систем не повлияло на антимикробную

активность образцов при различных видах обработки. Результаты представлены в табл. 5.

Антимикробная активность образцов остается постоянной вне зависимости от концентрации ПВП, порядка приготовления системы, дозы и ис-

точника облучения. При этом высокая антимикробная активность наблюдалась у всех гелей, что подтверждает полученные ранее данные об отсутствии влияния ионизирующего излучения на эффективность гентамицина и фосфомицина [7].

Таблица 5. Результаты исследования антимикробной активности образцов ПВП, содержащих лекарственные препараты

Состав образца	Вид облучения	Доза облучения, кГр	Зона подавления роста микрофлоры, мм		
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
15% ПВП, 5% фосфомицин; 1,2% гентамицин	Контроль		60	44	52
	УЭ	15	60	46	54
		30	60	50	50
	γ-Облучение	15	66	44	52
		30	56	46	54
	30% ПВП, 5% фосфомицин; 1,2% гентамицин	Контроль		56	40
УЭ		15	60	44	50
		30	60	44	50
γ-Облучение		15	62	44	60
		30	60	42	60

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенных исследований показали, что в системе под воздействием излучения проходят процессы как увеличения молекулярной массы ПВП, так и сшивания макромолекул.
2. Установлено, что γ-излучение оказывает более эффективное влияние на увеличение вязкости ПВП, чем УЭ излучение.
3. Антимикробная активность образцов сохраняется, независимо от концентрации ПВП, источника и дозы излучения, а также порядка введения компонентов в систему
4. Проведённые исследования позволяют рассматривать изучаемую систему как перспективную для дальнейшего изучения с целью разработки средства для профилактики и лечения перипротезной инфекции.

Работа выполнена в рамках НИР по государственному заданию «Разработка функциональных субстанций при эндопротезировании крупных суставов и ревизионных вмешательствах» (номер государственного учета НИОКТР ААА-А18-118021390050-8).

ЛИТЕРАТУРА

1. Romanò C.L., Scarponi S., Gallazzi E., Romanò D., Drago L. Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama // J. Orthop. Surg. Res. 2015;10:157.
2. Смагина В.В., Авраменко Г.В., Кривощенов А.Ф., Власова К.Ю. Коллоидно-химические характеристики гидрогелей на основе поливинилпирролидона, полученных методом радиационного сшивания // Научные ведомости. Сер. Естественные науки. 2014. № 3 (174). Вып. 26. С. 123–127.
3. Fecine G.J.V., Barros J.A.G., Catalani L.H. Poly(N-vinyl-2pyrrolidone) hydrogel production by ultraviolet radiation: new methodologies to accelerate crosslinking // Polymer. 2004; 45:4705–4709.
4. <http://www.ampolymer.com/Mark-Houwink.html/> дата обращения: 18.06.19 г.
5. МУК 4.2.2942-11 Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях.
6. Роговина Л.З., Васильев В.Г., Браудо Е.Е. К определению понятия «полимерный гель» // Высокомолекулярные соединения. 2008. Т. 50. № 7. С. 1397–1406.
7. Легонькова О.А., Терехова Р.П., Божкова С.А., Ахмедов Б.Г., Асанова Л.Ю., Полякова Е.М., Чилилов А.М. Влияние γ-излучения на антимикробные свойства гелей на основе поливинилпирролидона // Все материалы. Энциклопедический справочник. 2018. № 12. С. 26–30.

Поступила 16 сентября 2019 г.

PROPERTIES OF POLYVINYLPIRROLIDONE GELS AFTER STERILIZATION TREATMENTS

© Authors, 2019

O.A. Legonkova

Dr.Sc.(Tech.), Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

E-mail: Legonkova@ixv.ru

V.G. Vasiliev

Dr.Sc. (Chem.), Research Institute of Organoelement Compounds named after A.N.Nesmeyanov Academy of Sciences of Russia (Moscow)

S.A. Bozhkova

Dr.Sc. (Med.), Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after R.R. Vreden Ministry of Health of Russia (St. Petersburg)

R.P. Terekhova

Ph.D. (Med.), Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

A.S. Ogannisyan

Research Scientist, Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

M.M. Grigoriev

Research Scientist, Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

T.I. Vinokurova

Ph.D. (Tech.), Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

A.M. Chililov

Ph.D. (Med.), Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

B.G. Akhmedov

Dr.Sc. (Med.), Research Institute of Surgery named after A.V. Vishnevsky Ministry of Health of Russia (Moscow)

The aim of this work was to study the effect of different sources and doses of irradiation on the rheological and antibacterial properties of hydrogel systems, intended for further use in traumatology and orthopedics for the prevention and treatment of periprosthetic infections.

The rheological and antibacterial properties of hydrogels, that are potentially applicable for local antimicrobial therapy in orthopedics and traumatology, were investigated. In this study the local drug carrier was the hydrogel based on a biodegradable polymer polyvinylpyrrolidone (PVP). Gentamicin and fosfomycin were used as medicines.

In the frame of this study the evaluated effect of two different sterilization methods (exposure under accelerated electrons and gamma-radiation) on the rheological and antibacterial behavior of PVP hydrogels. The mentioned sterilization methods were applied for the formation of gel-shaped polymer matrix. It has been established that gamma-radiation is a more efficient method for crosslinking of PVP in aqueous solutions than exposure under accelerated electrons. Method of irradiation of initial solutions, which effectively influences on the viscosity of the gels, was determined. The temperature dependence of the rheological properties of the system was studied. It was shown that the efficiency of crosslinking reaction of macromolecules depends on the composition of the irradiated system. The presence of drugs in the system inhibits the process of crosslinking. The antimicrobial activity of the samples was preserved regardless on the concentration of PVP in the system. It also does not depend on the viscosity of the samples, the order of insertion of the components into the system, the source and dose of irradiation.

Key words: polyvinylpyrrolidone, periprosthetic inflammation, gentamicin, fosfomycin, viscosity, antimicrobial properties.

For citation: Legonkova O.A., Vasiliev V.G., Bozhkova S.A., Terekhova R.P., Ogannisyan A.S., Grigoriev M.M., Vinokurova T.I., Chililov A.M., Akhmedov B.G. Properties of polyvinylpyrrolidone gels after sterilization treatments. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(11):19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-03>

REFERENCES

- Romanò C.L., Scarponi S., Gallazzi E., Romanò D., Drago L. Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama // J. Orthop. Surg. Res. 2015;10:157.
- Smagina V.V., Avramenko G.V., Krivoshepov A.F., Vlasova K.YU. Kolloidno-himicheskie karakteristiki gidrogelej na osnove polivinilpirrolidona, poluchennyh metodom radiacionnogo sshivaniya // Nauchnye vedomosti. Ser. Estestvennye nauki. 2014. № 3 (174). Vyp. 26. S. 123–127.
- Fechine G.J.V., Barros J.A.G., Catalani L.H. Poly(N-vinyl-2pyrrolidone) hydrogel production by ultraviolet radiation: new methodologies to accelerate crosslinking // Polymer. 2004; 45:4705–4709.
- <http://www.ampolymer.com/Mark-Houwink.html/> data obrashcheniya: 18.06.19 г.
- MUK 4.2.2942-11 Metody sanitarno-bakteriologicheskikh issledovaniy ob'ektov okruzhayushchej sredy, vozduha i kontrolya steril'nosti v lechebnyh organizacijah.
- Rogovina L.Z., Vasiliev V.G., Braudo E.E. K opredeleniyu ponyatiya «polimernyj gel» // Vysokomolekulyarnye soedineniya. 2008. T. 50. № 7. S. 1397–1406.
- Legonkova O.A., Terekhova R.P., Bozhkova S.A., Akhmedov B.G., Asanova L.Yu., Polyakova E.M., Chililov A.M. Vliyanie γ -izlucheniya na antimikrobnye svoystva gelej na osnove polivinilpirrolidona // Vse materialy. Enciklopedicheskij spravochnik. 2018. № 12. S. 26–30.