

УДК 628.1:66.08

ДЕМЧЕНКО В. Л.¹, ЗАГОРОДНЯ С. Д.², РИБАЛЬЧЕНКО Н. П.², ЗАРЕМБА П. Ю.², АРТЮХ Л. О.²,
СИТНИК І. О.¹, КУНИЦЬКИЙ Д. В.¹, ОВСЯНКИНА В. О.^{3*}, НЕЙМАШ В. Б.⁴

¹ Інститут електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України,

³ Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

⁴ Інститут фізики НАН України

ПОЛІМЕРНІ ГІДРОГЕЛІ НА ОСНОВІ ПОЛІВІНІЛОВОГО СПИРТУ І ОКСИДУ ЦИНКУ

Останнім часом питання техногенно-екологічної безпеки стають все більш актуальними. Техногенні аварії та екологічні катастрофи мають серйозні наслідки для навколишнього середовища та здоров'я населення. Це змушує людство шукати шляхи пом'якшення впливу таких подій та запобігання їх виникненню в майбутньому. На перший план виходять інноваційні технології та розробки, спрямовані на покращення екології та здоров'я населення.

Актуальність удосконалення перев'язувальних засобів обумовлена зростаючою кількістю пацієнтів, які щороку страждають від хронічних ран, травм та опіків. Традиційні марлеві пов'язки мають суттєві обмеження, зокрема недостатню абсорбцію ексудату та ризик адгезії до рани. У відповідь на ці виклики зростає інтерес до полімерних гідрогелів, які мають бути нетоксичними, здатними підтримувати вологе середовище та демонструвати антимікробні властивості.

Робота присвячена формуванню цинквмісних гідрогелевих матеріалів на основі полівінілового спирту і поліетиленгліколю. Гідрогелеві матеріали формували шляхом відновлення іонів цинку за допомогою аскорбінової кислоти у лужному середовищі з подальшим зшиванням зразків шляхом опромінення високоенергетичним електронним променем. За допомогою методу ширококутової рентгенографії було досліджено особливості структури гідрогелевих матеріалів та підтверджено наявність оксиду цинку у досліджуваних зразках. Було виявлено, що полімерні гідрогелеві системи ПВС-ПЕГ-1% ZnO проявляють антимікробну та протівірусну активність. Встановлено, що досліджувані полімерні гідрогелеві матеріали з частинками оксиду цинку не чинять цитотоксичного ефекту.

Ключові слова: техногенно-екологічна безпека, біомедицина, гідрогель, частинки оксиду цинку, структура, бактеріцидна дія, протівірусна дія, цитотоксичність

DOI: 10.20535/2617-9741.3.2025.340380

* Corresponding author: ovsankinaviktoria@gmail.com

Received 08 May 2025; Accepted 05 June 2025

Вступ. Подібні до живих тканин, гідрогелеві матеріали є одними з найперспективніших матеріалів для біомедичних застосувань, зокрема як пов'язки для ран [1]. Вони застосовуються в системах доставки ліків, клітинних культур, для 3D-друку в сфері тканинної інженерії [2, 3]. Окрім цього, вони ефективно використовуються у створенні гелів, здатних до самовідновлення [4] матеріалів із властивістю пам'яті форми [5] а також у низці інших медичних напрямів [6].

Щороку мільйони людей стикаються з хронічними захворюваннями, травмами, термічними опіками, переломами та дефектами кісткових тканин, що вимагають тривалого й ефективного лікування. У ряді випадків загоєння відбувається природно, проте ускладнення перебігом патологій або зовнішніми факторами затримувати процес регенерації, що іноді спричиняє тяжкі ускладнення. За статистичними даними, близько 8,2 млн осіб страждає від хронічних незагоєних ран. Це зумовлює активні наукові дослідження, спрямовані на вивчення механізмів загоєння та вдосконалення перев'язувальних матеріалів [7].

У цьому контексті перев'язувальні матеріали відіграють ключову роль, забезпечуючи захист пошкоджених ділянок шкіри, спричинених травмами або захворюваннями [8]. Традиційні марлеві пов'язки залишаються поширеним рішенням у клінічній практиці, однак вони мають суттєві недоліки, зокрема необхідність частого оновлення, ризик прилипань до рани та недостатню здатність поглинати надлишок ексудату [8].

У зв'язку з цим ідея створення нетоксичного, високоабсорбуючого та антибактеріального полімерного гідрогелю як основи для сучасних ранових пов'язок викликає значний науковий інтерес.

Метою даної роботи є вивчення структури, антимікробної та протівірусної дії гідрогелевих матеріалів ПВС-ПЕГ-ZnO, зшитих електронним опроміненням.

Для синтезу зразків використовували такі реагенти: полівініловий спирт марки 17-99, поліетиленгліколь марки ПЕГ-6000 (у якості пластифікатора), аскорбінову кислоту, ацетат цинку.

Полівініловий спирт розчиняли у воді за температури 95 °С, а поліетиленгліколь за температури 20 °С, потім полімери перемішували протягом 30 хв. Далі полімерний розчин ПЕГ додавали до полімерного розчину ПВС у співвідношенні 1:8 мас. % і перемішували 30 хв за температури 95 °С. Потім розчиняли ацетат цинку і додавали до суміші розчину ПВС-ПЕГ за температури 80 °С і перемішували протягом 20 хв. На наступному етапі при перемішуванні до розчину ПВС-ПЕГ-Zn(OOCCN₃)₂ додавали розчин аскорбінової кислоти у співвідношенні [C₆H₈O₆] : [Zn²⁺] = 6. Потім шляхом прикапування NaOH розчин доводили до pH~11. Розчин перемішували протягом 3 год за температури 80 °С. Сформовані таким чином гелі зберігали при температурі 4 °С протягом 4 днів. Охолоджені гелі були опромінені за допомогою лінійного прискорювача електронів "Електроніка ЕЛУ-4" з дозою опромінення 33 кГр.

Особливості структури зразків досліджували методом ширококутового розсіювання рентгенівських променів на дифрактометрі XRD-7000 (Shimadzu, Японія), рентгенооптичну схему якого виконували пропусканням первинного пучка крізь зразок за допомогою CuKα випромінювання ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) і графітового монохроматора при температурі $T = 20 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для дослідження антимікробної дії гідрогелевих матеріалів у якості тест-культур використовували референтні штами умовно-патогенних мікроорганізмів: грампозитивні *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, грамнегативні – *Escherichia coli* ATCC 25922.

Антимікробну дію зразків досліджували методом дифузії в агар на поживному середовищі Мюллера-Хінтона [9]. Чашки Петрі з поживним середовищем Мюллера-Хінтона засівали 0,1 мл інкулята тест-культур мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, з розрахунку $2,5 \cdot 10^5$ КУО/мл. З попередньо виготовлених гідрогелевих зразків вирізали диски діаметром 10 мм та поміщали на поверхню поживного середовища засіяного тест-мікроорганізмами. Чашки інкубували 24–48 год при температурі 37 °С. Показником антимікробної активності була наявність чіткої зони навколо диска зразка. Чим більша зона навколо диска, тим вища інгібуюча ефективність. Контролем слугував диск зразка без частинки оксиду цинку. Досліди повторювали тричі. Інтерпретацію результатів проводили за діаметром зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків згідно до рекомендацій CLSI [10, 11].

У дослідженнях віруліцидної дії зразків використовували вірус грипу типу А (ВГА), H1N1, штам A/FM/1/47 та вірус простого герпесу 1 типу (ВПГ-1).

Для визначення цитотоксичності досліджуваних зразків використовували культури клітин Vero (ECACC N 84113001), отримані з клітинного банку Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології НАН України (Київ, Україна) та клітини MDCK (ECACC N84121903) з Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАН України (Київ, Україна).

Методика дослідження віруліцидної та цитотоксичної дії зразків детально описані в роботах [12, 13].

Результати та їх обговорення

Гідрогелевий матеріал – полівініловий спирт (ПВС) з поліетиленгліколем (ПЕГ-6000), на основі якого формували зразки з частинками оксиду цинку характеризується напівкристалічною структурою. Це підтверджується дифракційними максимумами при $2\theta_{\text{м}} \sim 11,2^{\circ}$, $19,5^{\circ}$, $23,0^{\circ}$, $40,8^{\circ}$, які відповідають кристалографічним площинам з індексами Міллера (100), (101), (200), (201) (рис. 1).

Проведена оцінка відносного рівня кристалічності ($X_{\text{кр}}$) зразка ПВС-ПЕГ за методом Метьюза [14]:

$$X_{\text{кр}} = Q_{\text{кр}}(Q_{\text{кр}} + Q_{\text{ам}})^{-1} \cdot 100,$$

де $Q_{\text{кр}}$ – площа дифракційних максимумів, які характеризують кристалічну структуру полімеру; $Q_{\text{кр}} + Q_{\text{ам}}$ – площа всієї дифрактограми в інтервалі кутів розсіювання ($2\theta_1 \div 2\theta_2$) в якому має вияв аморфно-кристалічна структура полімеру, показала, що він становить близько 53 %.

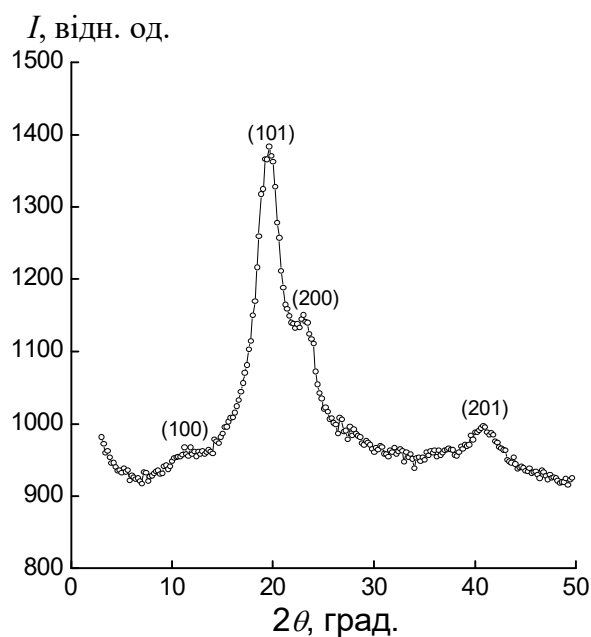


Рис. 1 – Ширококутова рентгенівська дифрактограма полімерної системи ПВС-ПЕГ

Аналіз ширококутових рентгенівських дифрактограм досліджуваних зразків показав, що при відновленні іонів Zn^{2+} з ацетату цинку у полімерній системі ПВС-ПЕГ за допомогою аскорбінової кислоти ($[C_6H_8O_6] : [Zn^{2+}] = 6$) відбувається утворення наночастинок ZnO. На це вказують відповідні дифракційні максимуми при $2\theta_m = 31,7^\circ$, $34,4^\circ$, $36,2^\circ$ та $47,5^\circ$, які відповідають площинам відбиття (100), (002), (101) та (110) відповідно (рис. 2, криві 2, 3) [15].

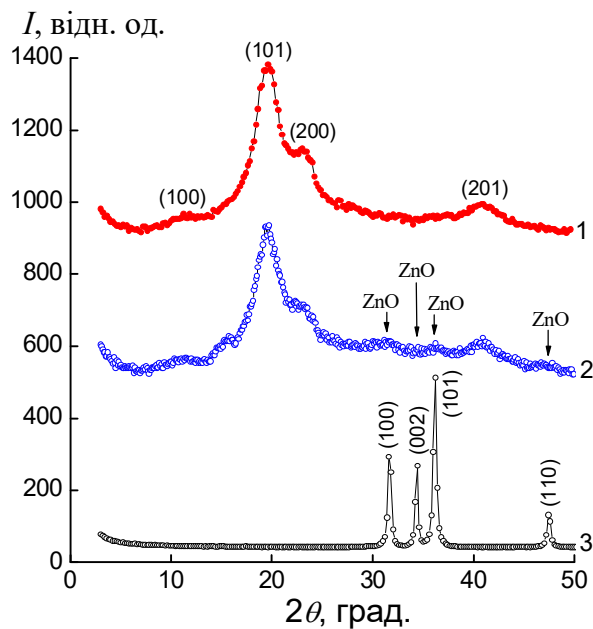


Рис. 2 – Ширококутові рентгенівські дифрактограми ПВС-ПЕГ (1) та ПВС-ПЕГ-ZnO (2), зшитих електронним променем та ZnO (3)

На рисунках 3 і 4 представлено результати дослідження антимікробної активності полімерних гідрогелів ПВС-ПЕГ, модифікованих 1 % мас. ZnO, відносно представників грампозитивної (*Staphylococcus aureus*) та грамнегативної (*Escherichia coli*) мікрофлори. Згідно з отриманими результатами, гідрогелевий зразок, модифікований оксидом цинку, продемонстрував наявність чіткої зони інгібування росту *S. aureus* (діаметр зони затримки росту – 15,46 мм) (рис. 3, а), що свідчить про виражену антибактеріальну активність. Натомість контрольний зразок без додавання частинок ZnO (рис. 3, б) не виявив жодної зони затримки росту (діаметр зони затримки росту – 0 мм), що підтверджує відсутність власної антимікробної активності полімерної матриці ПВС-ПЕГ без активного компонента.

На рисунку 4 наведені результати дослідження зразка ПВС-ПЕГ-1 % мас. ZnO проти *E. coli*. Як зразок з 1 % мас. ZnO (рис. 4, а), так і контрольний зразок без наночастинок (рис. 4, б) не виявили зон інгібування (діаметр зон затримки росту – 0 мм), що свідчить про відсутність активності ZnO-вмісного гідрогелю у заданій концентрації проти грамнегативних бактерій.

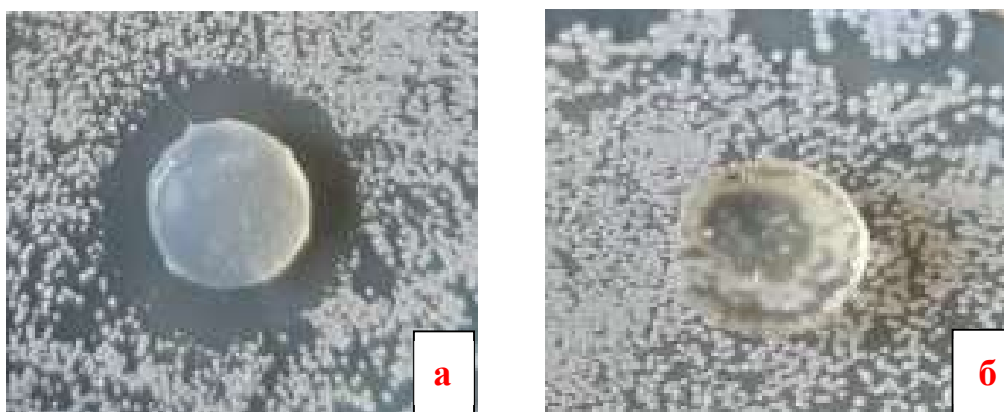


Рис. 3 – Антимікробна активність гідрогелевих матеріалів на основі ПВС-ПЕГ, наповнених 1 % мас. ZnO (а) та контрольний зразок ПВС-ПЕГ щодо мікроорганізму *S. aureus*



Рис. 4 – Антимікробна активність гідрогелевих матеріалів на основі ПВС-ПЕГ, наповнених 1 % мас. ZnO та контрольний зразок ПВС-ПЕГ (б) щодо мікроорганізму *E. coli*

Досліджувані зразки ПВС-ПЕГ-1% мас. ZnO продемонстрували віруліцидний ефект щодо вірусу грипу типу А (ВГА) (рис. 5, А). Даний гідрогелевий матеріал знижував інфекційний титр ВГА на $1,93 \pm 0,09 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл. Вихідний зразок ПВС-ПЕГ не проявив віруліцидного ефекту, зниження інфекційного титру не відбувалося.

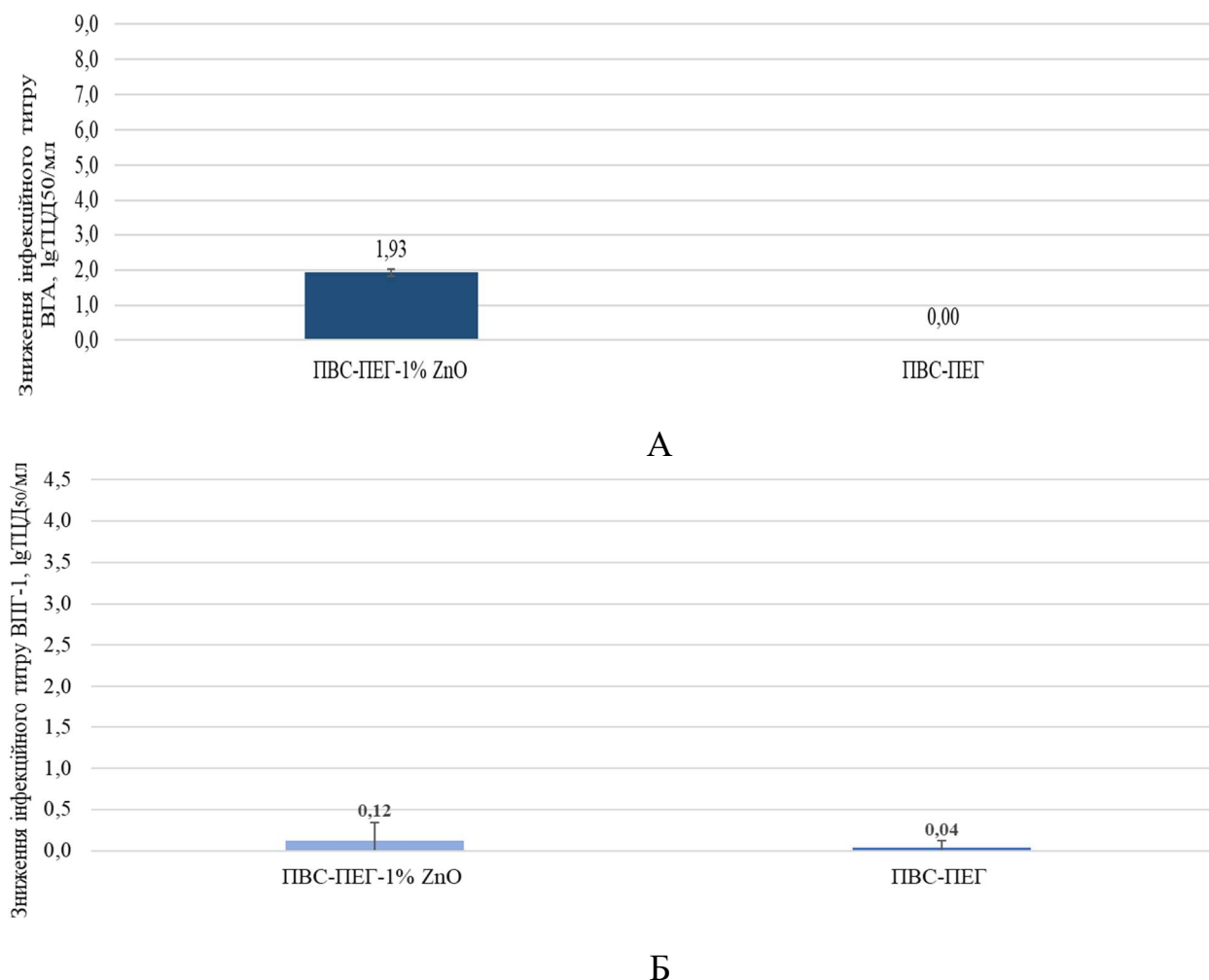


Рис. 5 – Віруліцидний вплив досліджуваних зразків щодо ВГА (А) та ВПГ-1 (Б)

Гідрогелевий матеріал ПВС-ПЕГ-1 % мас. ZnO не впливає на позаклітинний ВПГ-1 (рис. 5, Б). Також було встановлено, що вихідний зразок ПВС-ПЕГ не проявляв віруліцидного ефекту відносно ВПГ-1 (титр вірусу був у межах контрольного значення) (рис. 5, Б).

Проведені дослідження показали, що досліджуваний зразок ПВС-ПЕГ-1 мас.% ZnO знижує метаболічну активність клітин MDCK на 5-84 %. Розрахований індекс CC_{50} дорівнює $4,42 \pm 0,22$ у розведенні. При цьому вихідний зразок ПВС-ПЕГ не чинив цитотоксичного ефекту щодо клітин MDCK (рис. 6, А).

При дослідженні токсичної дії зразків ПВС-ПЕГ-1 мас. % ZnO та ПВС-ПЕГ у культурі клітин Vero виявлено подібні закономірності, що і у культурі MDCK.

Композит ПВС-ПЕГ-1 % мас. ZnO у не розведеному стані та у розведенні 1:5 знижував частку живих клітин у порівнянні із контролем (на 74-98 %), лише у розведенні 1:25 показники життєздатності клітин були у нормі (94-100%) (рис. 6, Б). Його показник CC_{50} – $10,25 \pm 0,71$ у розведенні.

Слід зауважити, що зразок ПВС-ПЕГ не проявляв жодного негативного впливу на функціональну активність клітин Vero (~100%) (рис.6, Б).

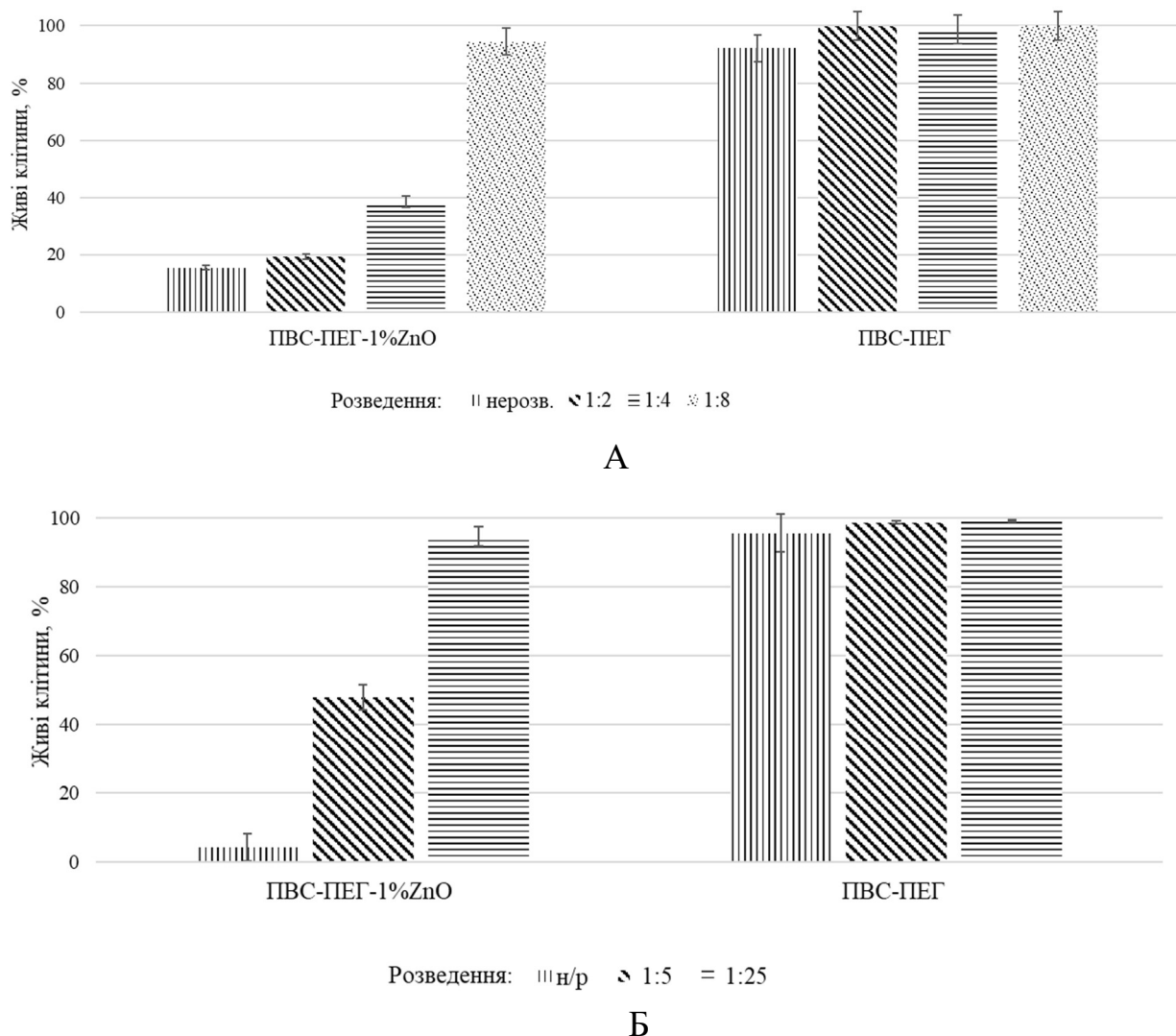


Рис. 6 – Токсичний вплив досліджуваних зразків на культури клітин MDCK (А) та Vero (Б)

Роботу виконано за фінансової підтримки гранту Національного фонду досліджень України (Розробка біополімерних нанокompозитних матеріалів для стимуляції регенерації живих тканин та загоєння ран. Ідентифікатор заявки 2023.05/0009).

Список використаної літератури

1. Chen Z., Zhao D., Liu B., Nian G., Li X., Yin J., Qu S. 3D Printing of Multifunctional Hydrogels. *Advanced Functional Materials*. 2019. Vol. 16. P. 1900971.
2. Thavornyutikarn B., Chantarapanich N., Sitthiseripratip K., Thouas G.A., Chen Q. Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. *Progress in biomaterials*. 2014. Vol. 3. P. 61–102.
3. Taaca K.L.M., Prieto E.I., Vasquez M.R. Current trends in biomedical hydrogels: from traditional crosslinking to plasma-assisted synthesis. *Polymers*. 2022. Vol. 14, № 13. P. 2560.
4. Zhang H., Xia H., Zhao Y. Poly(vinyl alcohol) Hydrogel Can Autonomously Self-Heal. *ACS macro letters*. 2012. Vol. 1, № 11. P. 1233–1236.

5. Du H., Zhang J. Solvent induced shape recovery of shape memory polymer based on chemically cross-linked poly(vinyl alcohol). *Soft matter*. 2010. Vol. 6, № 14. P. 3370.
6. Gong Z., Zhang G., Zeng X., Li J., Li G., Huang W., Sun R., Wong C. High-Strength, tough, fatigue resistant, and self-healing hydrogel based on dual physically cross-linked network. *ACS applied materials & interfaces*. 2016. Vol. 8, № 36. P. 24030–24037.
7. Kamoun E.A., Loutfy S.A., Hussein Y., Kenawy El-R.S. Recent advances in PVA-polysaccharide based hydrogels and electrospun nanofibers in biomedical applications: a review. *International journal of biological macromolecules*. 2021. Vol. 187. P. 755–768.
8. Wang M., Bai J., Shao K., Tang W., Zhao X., Lin D., Huang S., Chen C., Ding Z., Ye J. Poly(vinyl alcohol) hydrogels: the old and new functional materials. *International journal of polymer science*. 2021. Vol. 2021. P. 1–16.
9. Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 1966. Vol. 45. P. 493–496.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne. PA. 2005.
11. Brouillard J.E., Terriff C.M., Tofan A. et al. Antibiotic selection and resistance issues with fluoroquinolones and doxycycline against bioterrorism agents. *Pharmacotherapy. The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2006. Vol. 26. P. 3-14.
12. Naumenko K., Zahorodnia S., Pop C.V., Rizun N. Antiviral activity of silver nanoparticles against the influenza A virus. *J Virus Erad*. 2013. Vol. 9. P. 10033013.
13. Rybalchenko N.P., Hnatiuk T.T., Artiukh L.O., Naumenko K.S., Zaremba P.Yu., Demchenko V.L., Kokhtych L.M., Iurzhenko M.V., Rybalchenko T.V., Ovsyankina V.O., Dolgoshey V.B., Sytnyk I.O., Marynin A.I. Antimicrobial and antiviral activity of nanocomposites based on polyelectrolyte complexes and silver nanoparticles. *Microbiological Journal*. 2023. Vol. 86. P. 36-50.
14. Demchenko, V.L., Shtompel, V.I. Structuring, Morphology, and Thermomechanical Properties of Nanocomposites Formed from Ternary Polyelectrolyte-Metal Complexes Based on Pectin, Polyethyleneimine, and CuSO₄. *Polymer Science*. 2014. Vol. 56, № 6. P. 927–934.
15. Khan S.H., Suriyaprabha R., Pathak B., Fulekar M.H. Photocatalytic degradation of organophosphate pesticides (Chlorpyrifos) using synthesized zinc oxide nanoparticle by membrane filtration reactor under UV irradiation. *Frontiers in Nanoscience and Nanotechnology*. 2015. Vol. 1, № 1. P. 25-29.

Valerii Demchenko, Svitlana Zahorodnia, Nataliia Rybalchenko, Polina Zaremba, Liubov Artiukh, Illia Sytnyk, Dmytro Kunytskyi, Viktoriia Ovsiankina, Volodymyr Neimash

POLYMER HYDROGELS BASED ON POLYVINYL ALCOHOL AND ZINC OXIDE

Recently, issues of technogenic and ecological safety have become increasingly relevant. Technogenic accidents and ecological disasters have serious consequences for the environment and public health. This forces humanity to look for ways to mitigate the impact of such events and prevent their occurrence in the future. Innovative technologies and developments aimed at improving the environment and public health come to the fore.

The urgency of improving dressings is due to the growing number of patients who suffer from chronic wounds, injuries and burns every year. Traditional gauze bandages have significant limitations, in particular, insufficient absorption of exudate and the risk of adhesion to the wound. In response to these challenges, interest in polymer hydrogels is growing, which must be non-toxic, able to maintain a moist environment and demonstrate antimicrobial properties.

The work is devoted to the formation of zinc-containing hydrogel materials based on polyvinyl alcohol and polyethylene glycol. Hydrogel materials were formed by reducing zinc ions with ascorbic acid in an alkaline medium with subsequent crosslinking of the samples by irradiation with a high-energy electron beam. Using the wide-angle X-ray diffraction method, the structural features of the hydrogel materials were investigated and the presence of zinc

oxide in the studied samples was confirmed. It was found that the polymer hydrogel systems PVA-PEG-1% ZnO exhibit antimicrobial and antiviral activity. It was established that the studied polymer hydrogel materials with zinc oxide particles do not have a cytotoxic effect.

Keywords: technogenic and ecological safety, biomedicine, hydrogel, zinc oxide particles, structure, bactericidal effect, antiviral effect, cytotoxicity

References

1. Chen Z., Zhao D., Liu B., Nian G., Li X., Yin J., Qu S. (2019). 3D Printing of Multifunctional Hydrogels. *Advanced Functional Materials*. Vol. 16. P. 1900971.
2. Thavornnyutikarn B., Chantarapanich N., Sithiseripratip K., Thouas G.A., Chen Q. (2014). Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. *Progress in biomaterials*. Vol. 3. P. 61–102.
3. Taaca K.L.M., Prieto E.I., Vasquez M.R. Current trends in biomedical hydrogels: from traditional crosslinking to plasma-assisted synthesis. *Polymers*. (2022). Vol. 14, № 13. P. 2560.
4. Zhang H., Xia H., Zhao Y. (2012). Poly(vinyl alcohol) Hydrogel Can Autonomously Self-Heal. *ACS macro letters*. Vol. 1, № 11. P. 1233–1236.
5. Du H., Zhang J. (2010). Solvent induced shape recovery of shape memory polymer based on chemically cross-linked poly(vinyl alcohol). *Soft matter*. Vol. 6, № 14. P. 3370.
6. Gong Z., Zhang G., Zeng X., Li J., Li G., Huang W., Sun R., Wong C. (2016). High-Strength, tough, fatigue resistant, and self-healing hydrogel based on dual physically cross-linked network. *ACS applied materials & interfaces*. Vol. 8, № 36. P. 24030–24037.
7. Kamoun E.A., Loutfy S.A., Hussein Y., Kenawy El-R.S. (2021). Recent advances in PVA-polysaccharide based hydrogels and electrospun nanofibers in biomedical applications: a review. *International journal of biological macromolecules*. Vol. 187. P. 755–768.
8. Wang M., Bai J., Shao K., Tang W., Zhao X., Lin D., Huang S., Chen C., Ding Z., Ye J. (2021). Poly(vinyl alcohol) hydrogels: the old and new functional materials. *International journal of polymer science*. Vol. 2021. P. 1–16.
9. Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. Vol. 45. P. 493–496.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute NCCLS. (2005). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne. PA.
11. Brouillard J.E., Terriff C.M., Tofan A. et al. (2006). Antibiotic selection and resistance issues with fluoroquinolones and doxycycline against bioterrorism agents. *Pharmacotherapy. The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. Vol. 26. P. 3-14.
12. Naumenko K., Zahorodnia S., Pop C.V., Rizun N. (2013). Antiviral activity of silver nanoparticles against the influenza A virus. *J Virus Erad*. Vol. 9. P. 10033013.
13. Rybalchenko N.P., Hnatiuk T.T., Artiukh L.O., Naumenko K.S., Zarembo P.Yu., Demchenko V.L., Kokhtych L.M., Iurzhenko M.V., Rybalchenko T.V., Ovsyankina V.O., Dolgoshey V.B., Sytnyk I.O., Marynin A.I. (2023). Antimicrobial and antiviral activity of nanocomposites based on polyelectrolyte complexes and silver nanoparticles. *Microbiological Journal*. Vol. 86. P. 36-50.
14. Demchenko, V.L., Shtompel, V.I. (2014). Structuring, Morphology, and Thermomechanical Properties of Nanocomposites Formed from Ternary Polyelectrolyte-Metal Complexes Based on Pectin, Polyethyleneimine, and CuSO₄. *Polymer Science*. Vol. 56, № 6. P. 927–934.
15. Khan S.H., Suriyaprabha R., Pathak B., Fulekar M.H. (2015). Photocatalytic degradation of organophosphate pesticides (Chlorpyrifos) using synthesized zinc oxide nanoparticle by membrane filtration reactor under UV irradiation. *Frontiers in Nanoscience and Nanotechnology*. Vol. 1, № 1. P. 25-29.