

## ПОЛУЧЕНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ ПЛЕНОК МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

### ELECTROSPINNING OF HEMOSTATIC FILMS

М.А. Демидова<sup>1</sup>, В.А. Новицкая<sup>2</sup>, Д.Б. Рыклин<sup>1</sup>, С.В. Гвоздев<sup>2</sup>  
M.A. Demidova<sup>1</sup>, V.A. Novitskaya<sup>2</sup>, D.B. Ryklin<sup>1</sup>, S.V. Gvozdev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Витебский государственный технологический университет, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Республика Беларусь

<sup>1</sup>Vitebsk State Technological University, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Vitebsk State Order of the Peoples' Friendship Medical University, Republic of Belarus

E-mail: demidova.mariya00@gmail.com, veronikanovitskaya1998@gmail.com,  
ryklin-db@mail.ru, 5170644@gmail.com

**Разработана гемостатическая пленка для остановки паренхиматозного кровотечения, получаемая путем электроформования на основе волокнообразующего раствора поливинилового спирта. В качестве функциональных добавок выбраны хлорид алюминия и хлорид железа. Определено максимально возможное содержание функциональных добавок, не препятствующее стабильному процессу электроформования. Установлено влияние комплекса функциональных добавок на протекание процесса электроформования и структуру получаемых материалов.**

**Ключевые слова:** электроформование, нановолокна, биомедицина, поливиниловый спирт, гемостатическая пленка.

**An electrospun hemostatic film has been developed for stopping parenchymal bleeding on the basis of the fiber-forming solution of polyvinyl alcohol. Aluminum chloride and ferric chloride were selected as functional additives. The maximum possible content of functional additives which does not interfere with a stable electroforming process has been determined. The effect of the functional additives complex on the electrospinning process and the structure of the obtained film has been established.**

**Key words:** electrospinning, nanofibers, biomedicine, polyvinyl alcohol, hemostatic film.

Получение электроформованных нановолокнистых материалов, покрытий и конструкций является одним из перспективных решений для многих сфер биомедицины и косметологии. Считается, что именно электроформование позволяет наиболее полно управлять характеристиками производимых нановолокон, поскольку в процессе производства нановолокна проходят различные стадии обработки, и на каждой стадии можно применять разные методы и манипуляции для улучшения продукта. Именно электроформованные нановолокна могут обеспечить создание материалов для лечения ран из-за доступности их производства, способности имитировать внеклеточный матрикс кожи и неспособности передавать заболевания в отличие от обычных кожных трансплантатов [1]. Нановолокна широко используются в лечении диабетических ран. Диабетическая инфекция – это хроническое трудноизлечимое осложнение. Кожа больных сахарным диабетом склонна к повреждению, заживление после травмы происходит медленно, и рана возникает повторно. Поэтому существует острая необходимость в разработке эффективного метода лечения диабетических ран, что возможно при производстве специфических электроформованных нановолокон с механизмом медленного высвобождения лекарственных средств [2]. Электроформованные нановолоконные мембраны также являются объектом интереса со стороны исследователей в качестве потенциального физического барьера для уменьшения послеоперационной адгезии [3]. Поскольку предотвращение инфицирования раны остается критическим шагом для облегчения заживления ран после наложения повязки на рану, разрабатываются электроформованные материалы с биосовместимостью, высокой

механической прочностью, сильной адсорбционной способностью и включением антибиотика для обеспечения контролируемой противомикробной терапии [4].

Целью данной работы являлась разработка медицинской гемостатической пленки для остановки паренхиматозного кровотечения для использования в хирургии.

На сегодняшний день паренхиматозное кровотечение у пациента, вызванное как хирургическим вмешательством, так и криминальными, боевыми травмами, ставит перед врачом три проблемы, от решения которых зависит дальнейшее состояние и осложнения здоровья человека: угроза гипоксии, предотвращение геморрагического шока и остановка непосредственно самого кровотечения [5]. Последний вопрос особенно остро стоит в последние годы, в связи с отсутствием на данный момент совершенного способа достижения гемостаза при повреждениях печени, селезенки, почек, поджелудочной железы. Данные органы обладают определенными анатомическими особенностями (множество синусоидальных капилляров печени, отсутствие клапанного механизма в венозных сосудах, слабая сократительная способность паренхимы), что осложняет остановку их кровотечений и делает невозможным применение некоторых традиционных методик [6, 7]. Например, механические способы достижения гемостаза (прошивание, сдавливание) являются временной мерой. Что касается физических методов (электро-, термо-, лазерная-, ультразвуковая коагуляция), то при их использовании образуется большая зона воспаления и некроза, а также не исключено прилипание и обрыв тканей. Кроме того, в случае использования монополярной коагуляции возможно повреждение электротокотом тканей и органов, отдаленных от места оперативного вмешательства [6, 8].

Одним из наиболее эффективных методов остановки паренхиматозного кровотечения является использование гемостатических лекарственных препаратов. Разработка местных, более «щадящих» препаратов, в последнее время набирает все большие обороты, однако имеющиеся сегодня на рынке препараты соответствуют далеко не всем требованиям эффективности, среди которых можно выделить следующие: необходимость достижения гемостаза за временной интервал менее 2 минут, высокая адгезивность, отсутствие токсичных и антигенных свойств, удобство применения, легкость снятия с подложек, не подвергающихся биодegradации [9, 10]. Соответственно, одни не могут использоваться при эндоскопических операциях, другие не способны полностью деградировать в организме человека, что приводит к воспалению и потребности повторного оперативного вмешательства, третьи не обладают достаточной адгезией.

Сегодня на фармацевтическом рынке присутствуют различные варианты губок гемостатических. Опыт использования таких лекарственных препаратов на основе целлюлозы показал определенные ограничения в применении: целлюлоза способна сильно набухать, поэтому после выполнения своей цели такие гемостатики должны удаляться из участков, окружающих костный мозг, хиазму, зрительный нерв во избежание сжатия данных структур [11]. Гемостатические губки на основе коллагена не способны справиться с массивным кровотечением, а само вещество подвергается резорбции в течение 4 недель, причем наблюдается умеренное воспаление прилежащих тканей в области нанесения лекарственного препарата. Лекарственные препараты на основе желатина, то всегда существует риск эмболии при попадании в сосуд и возможности возникновения инфекции [9]. Все это в совокупности приводит к тому, что поиск и разработка местных лекарственных препаратов для остановки паренхиматозного кровотечения активно продолжается [12].

На основании проведенного анализа высказана гипотеза о том, что технология электроформования позволит получать быстродеградирующие медицинские пленки, содержащие в своем составе комплекс функциональных добавок.

Исследования проводились на установке для формирования нановолокнистых материалов Fluidnatek LE-50. Как и на других установках, электроформование на которых осуществляется с использованием капилляров, электрическое напряжение прикладывается к раствору полимера, который при помощи дозатора подается на прядильную головку. Высокое напряжение индуцирует в растворе полимера одноименные электрические заряды, которые, в

результате кулоновского электростатического взаимодействия, приводят к вытягиванию раствора полимера в тонкую струю. В процессе электростатического вытягивания полимерной струи она может претерпевать ряд последовательных расщеплений на более тонкие струи при определенном соотношении значений вязкости, поверхностного натяжения и плотности электрических зарядов (или напряженности электростатического поля) в волокне [13]. Полученные струи отверждаются за счет испарения растворителя, превращаясь в волокна, и под действием электростатических сил дрейфуют к заземленной подложке, закрепленной на осадительном электроде [14].

В результате анализа возможных вариантов исходного сырья установлено, что для получения нановолокнистых материалов, характеризующихся быстрой биodeградацией, целесообразно использовать в качестве волокнообразующего полимера поливиниловый спирт (ПВС) марки Arkofil PPL (Arhroma, Швейцария).

В ходе предварительных исследований установлено, стабильный процесс электроформования осуществляется при использовании растворов с содержанием 14–16 % ПВС в зависимости от вида функциональной добавки, а также влажности воздуха в камере установки. В связи с этим было принято решение разработать новый вид нановолокнистого материала хирургического назначения на основе 14%-ного раствора ПВС.

В качестве функциональных добавок были выбраны хлорид железа  $AlCl_3$  и хлорид алюминия  $FeCl_3$ . Стандартное применение солей алюминия в медицине подразумевает оказание антацидного эффекта при пероральном приеме [10]. Препараты железа, как в парентеральной, так и пероральной форме ассоциируются в первую очередь с лечением железодефицитной анемии [11]. Однако давно доказана способность данных металлов вызывать денатурацию белков крови с переходом в твердое состояние, что позволяет реализоваться их гемостатическому эффекту. Подобное действие могут оказывать и другие неорганические соединения, но наиболее популярными являются именно соли алюминия и железа [12]. Так, белорусской фармацевтической промышленностью выпускаются такие лекарственные препараты, как «Алюстат» или «Гамастат» – они оба имеют лекарственную форму раствора, что, однако, не всегда удобно и эффективно для остановки паренхиматозного кровотечения [15, 16].

В ходе проведенных экспериментов по моделированию паренхиматозного кровотечения на печени крыс и оценке гемостатической эффективности различных концентраций хлоридов алюминия и железа, находящихся в жидкой лекарственной форме, было установлено, что наиболее быстрая остановка кровотечения наблюдалась в группе, где содержание железа составляло 10 % и алюминия 5%, и в группе, где одиночно присутствовал один алюминий в 10%-ной концентрации. Однако в связи с появлением мощного воспаления и множественных спаек на 3 сутки после проведения оперативного вмешательства в первой, оговоренной нами группе, наиболее эффективным признан состав с 10%-ным хлоридом алюминия [17]. Именно этот состав, а также состав с 5%-ным железом хлоридом и 10%-ным алюминия хлоридом, применяемым в лекарственном препарате «Гамастат», и был принят нами для включения в состав медицинской гемостатической пленки.

Процесс приготовления растворов осуществлялся в 2 этапа:

1. Приготовление водного раствора ПВС на водяной бане до полного растворения гранул полимера. При этом массовая доля ПВС в растворе на данном этапе подбиралась таким образом, чтобы его содержание в окончательном растворе с функциональными добавками составила 14%.

2. Растворение в полученном растворе порошков хлорида железа  $AlCl_3$  и хлорида алюминия  $FeCl_3$  при комнатной температуре.

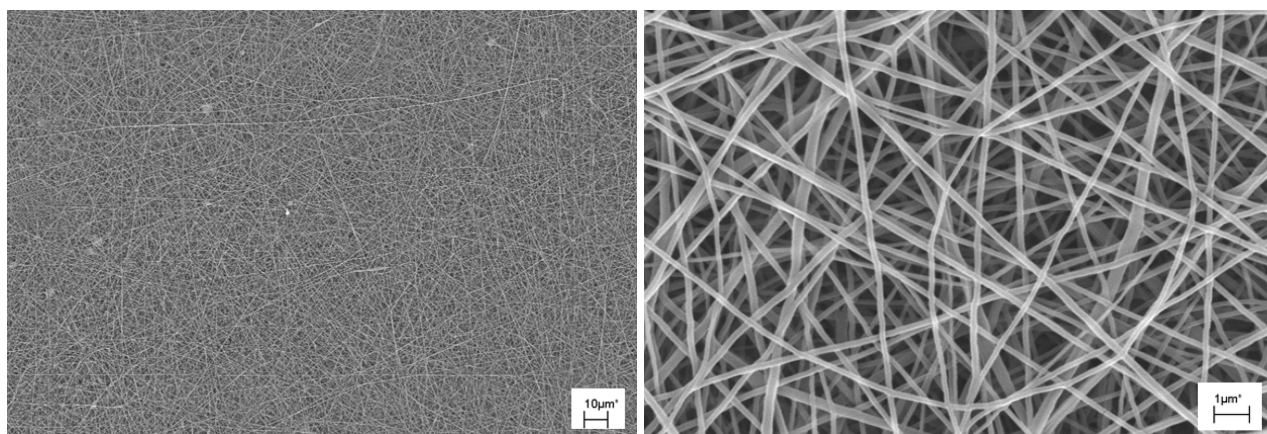
На начальном этапе исследований необходимо было определить максимальные концентрации функциональных добавок, при которых процесс электроформования протекает стабильно.

На первом этапе исследований осуществлена попытка получения нановолокнистого материала из прядильного раствора, содержащего 6 %  $AlCl_3$  и 3 %  $FeCl_3$ . Однако при

использовании такого раствора не происходило формирование конуса Тейлора и формирования заряженной струи полимера. При снижении концентрации  $AlCl_3$  до 2 % и  $FeCl_3$  до 1 % процесс электроформования протекал нестабильно. Достаточной стабильности процесса удалось добиться при концентрации 1,4 %  $AlCl_3$  и 0,7 %  $FeCl_3$ . При этом содержание солей алюминия и железа в получаемой гемостатической пленке соответствует их содержанию в препарате «Гамастат» – 10 % и 5 %, соответственно. Оптимальный расход раствора составил 1,1 мл/ч, что на 15 % ниже значения соответствующего показателя, определенного для 14%-ного раствора ПВС Arkofil PPL без функциональных добавок.

Исследование структуры получаемых нановолокнистых материалов осуществлялось с использованием электронного сканирующего микроскопа LEO 1420 (Carl Zeiss, Германия).

На рисунках 1 и 2 в представлены изображения структуры нановолокнистого материала, выработанного из 14%-ного раствора ПВС Arkofil PPL без функциональных добавок и с солями алюминия и железа, полученные при разном увеличении.



а) 1000 раз

б) 15 000 раз

Рис. 1. Изображения структуры нановолокнистого материала, выработанного из 14%-ного раствора ПВС Arkofil PPL без функциональных добавок, полученные при разном увеличении

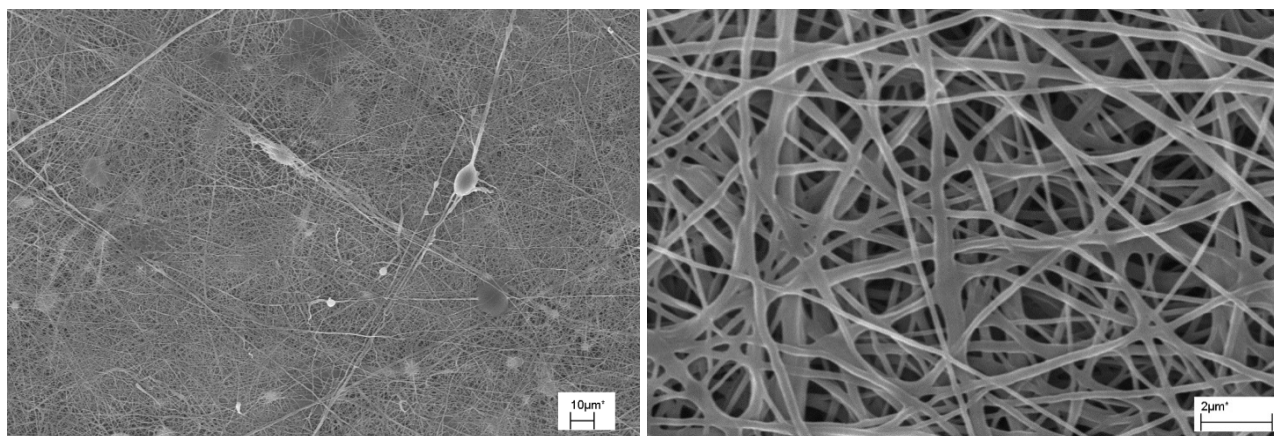
Можно заметить, что введение в состав прядильного растворов солей алюминия приводит к снижению равномерности нановолокнистого покрытия. Сопоставление рисунков 1 б и 2 б, полученных при максимальном увеличении, показывает, что волокна получаемой гемостатической пленки в значительной степени покрываются раствором солей. На рисунке 2 а видно, что растворы  $AlCl_3$  и  $FeCl_3$  достаточно равномерно распределены по всей площади материала. Однако заметны локальные участки, на которых растворение присутствует неполностью растворенные гранулы размером от 5 до 10 мкм, которые не были видны ни в растворе, ни на поверхности получаемых пленок.

Количественная оценка равномерности нановолокнистого покрытия осуществлялась на основании анализа законов распределения нановолокон по диаметру. Было отмечено сходство полученных распределений. В обоих случаях распределение волокон по диаметру соответствует логнормальному закону, что позволяет считать процесс расщепления струи на всем пути от эмиттера до коллектора стационарным.

Характеристики получаемых нановолокон приведены в таблице 1. Можно отметить, что средний диаметр электроформованных волокон при добавлении в раствор солей алюминия и железа увеличивается незначительно, в то время как неравномерность волокон по диаметру существенно возрастает.

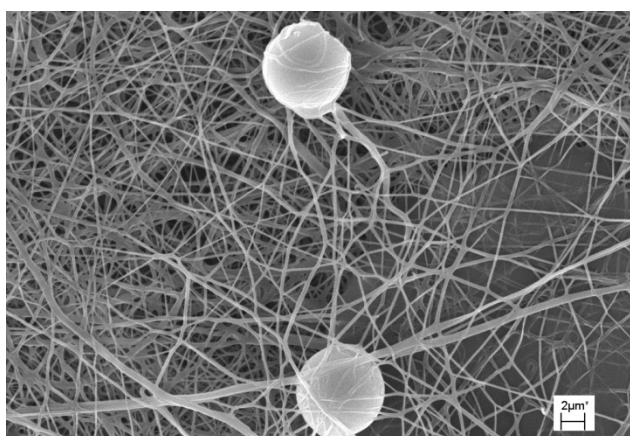
Характеристики электроформованных волокон нановолокон

Состав прядильного раствора	Средний диаметр волокна, нм	Коэффициент вариации по диаметру волокна, %
Вода – 86,0 %, ПВС – 14,0 %	171,8	21,65
Вода – 83,9 %, ПВС – 14,0 %, $AlCl_3$ – 1,4 %, $FeCl_3$ – 0,7 %	177,2	32,77



а) 1000 раз

б) 15 000 раз



в) 5000 раз

Рис. 2. Изображения структуры нановолокнистого материала, выработанного из 14%-ного раствора ПВС Arkofil PPL с добавлением 1,4 %  $AlCl_3$  и 0,7 %  $FeCl_3$ , полученные при разном увеличении

Полученные пленки легко отделялись от подложки, в качестве которой использовалась бумага, а при накладывании на влажную поверхность быстро растворялись, образуя тонкий желеобразный слой. Указанные свойства полученных электроформованных материалов свидетельствуют о технической возможности их использования в качестве гемостатических пленок для остановки паренхиматозного кровотечения.

На следующем этапе работы запланировано проведение доклинических испытаний с целью оценки эффективности разработанных нановолокнистых материалов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Arida, I.A. Electrospun polymer-based nanofiber scaffolds for skin regeneration / I.A. Arida, I.H. Ali, M. Nasr, I.M. El-Sherbiny // Journal of Drug Delivery Science and Technology. – 2021. – V. 64. – Article 102623.

2. Xua, X. Silk fibroin/poly-(L-lactide-co-caprolactone) nanofiber scaffolds loaded with Huangbai Liniment to accelerate diabetic wound healing / X. Xua, X. Wang, C. Qin, A.R. Khan, W. Zhang, X. Mo // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2021. – V. 199. – Article 111557.
3. Mao, Y. Facile fabrication of phospholipid-functionalized nanofiber-based barriers with enhanced anti-adhesion efficiency / Y. Mao, R. Guidoin, G. Brochu, Y. Li, Z. Zhang, F. Wang, L. Wang // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2021. – V. 203. – Article 111728.
4. Wang, J. Antimicrobial hydroxyapatite reinforced-polyelectrolyte complex nanofibers with long-term controlled release activity for potential wound dressing application / J. Wang, N. Cai, V. Chan, H. Zeng, H. Shi, Y. Xue, F. Yu // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2021. – V. 624. – Article 126722.
5. Ураков, А. Л. Метод стопроцентного гемостаза / А. Л. Ураков // *Креативная хирургия и онкология*. – 2020. №4. – С. 270-274.
6. Пахлеваян, В. Г. Гемостаз в хирургии паренхиматозных органов брюшной полости. Обзор литературы / В. Г. Пахлеваян, С. А. Колесников // *Вестник хирургической гастроэнтерологии*. – 2015. - №1-2. – С. 50-56.
7. Nouri, S. Efficacy and Safety of Ferric Chloride in Controlling Hepatic Bleeding; An Animal Model Study / S. Nouri, M.R. Sharif // *Hepatitis Monthly*. – 2014. - №6.
8. Местные гемостатические средства и пути их усовершенствования / Е.В. Будко [и др.] // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. - 2019. - №2. - С. 274-285.
9. Кобелевская, Н.В. Современные аспекты лекарственной гемостатической терапии / Н.В. Кобелевская // *Вестник последипломного медицинского образования*. – 2014. - №2. – С. 5-10.
10. Плотникова, Е. Ю. Актуальность антацидов и альгинатов в лечении заболеваний органов пищеварения / Е. Ю. Плотникова // *Лечащий врач*. – 2015. – №2. - С. 58-64.
11. Дворецкий, Л. И. Сульфат железа в лечении железодефицитной анемии: позиции сохраняются / Л. И. Дворецкий // *Терапевтический архив*. – 2017. - №10. – С. 108-112.
12. Бейли, Д.Х. Обеспечение гемостаза, и контроля за десневой жидкостью: обязательное требование в современной стоматологии / Д.Х. Бейли, Д.Е. Фишер // *Клиническая стоматология*. – 2004. – № 2. – С. 34–35.
13. Рыклин, Д.Б. Определение рациональных режимов электроформования с использованием прядильных головок различной конструкции / Д.Б. Рыклин, В.М. Азарченко, М.А. Демидова // *Химические волокна*. – 2019. - № 4. – с. 13 – 15.
14. Рыклин, Д.Б. Оценка влияния добавки глицерина в прядильный раствор на структуру электроформованных материалов / Д.Б. Рыклин, Н.Н. Ясинская, М.А. Демидова, В.М. Азарченко // *Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX)*. – 2020. – №1. – с. 88-93.
15. Особенности применения гемостатического препарата «Алюфер» при остановке кровотечения / П.В. Бордаков [и др.] // *Военная медицина*. – 2020. - №2. – С. 82-85.
16. Применение нового гемостатического средства на основе неорганических солей при кровотечениях из верхних отделов пищеварительного тракта / И. С. Жаворонок [и др.] // *Военная медицина*. – 2016. - №3. – С. 101-105.
17. Изучение кровоостанавливающего действия пены медицинской / В.А. Новицкая [и др.] // «Молодая фармация – потенциал будущего» : сборник материалов IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. – СПб.: СПХФА, 2021. – С. 64-66.