

**АНАЛИЗ СПОСОБОВ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРЯДИЛЬНЫХ РАСТВОРОВ
ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ ПЛЕНОК
МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ**

**ANALYSIS OF SPINNING SOLUTIONS PREPARING METHODS
FOR ELECTROSPINNING OF HEMOSTATIC FILMS**

М.А. ДЕМИДОВА¹, Д.Б. РЫКЛИН¹, В.А. МОЛОТОК², С.Э. РЖЕУССКИЙ²

М.А. DEMIDOVA¹, D.B. RYKLIN¹, V.A. MOLOTOK², S.E. RZHEUSSKY²
(Витебский государственный технологический университет, Республика Беларусь,
Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет, Республика Беларусь)

(Vitebsk State Technological University, Republic of Belarus,
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Republic of Belarus)

E-mail: demidova.mariya00@gmail.com; ryklin-db@mail.ru; veronikanovitskaya1998@gmail.com; sirrr@inbox.ru

В настоящее время в мире активно ведутся разработки функциональных материалов, покрытий и веществ для нужд биомедицины, поскольку это позволяет решить ряд специфических проблем, невозможных без их применения. Управление структурой материала с механизмом таргет-доставки позволяет регулировать его основные свойства, это возможно путем изменения способа приготовления прядильного раствора волокнообразующего полимера с добавлением таргет-компонента. В связи с этим в статье устанавливается влияние способа приготовления формовочного раствора на структуру и морфологию нановолокнистого материала, а также на эффективность его применения в качестве гемостатической пленки. Экспериментальные исследования процесса электроформования проводились на установке Fluidnatek LE-50. Изображения электроформованных материалов были получены с использованием электронного сканирующего микроскопа LEO 1420 (Carl Zeiss, Германия). Доказано, что способ приготовления раствора оказывает существенное влияние на структуру и морфологию нановолокнистого материала с добавлением таргет-компонентов. При этом при использовании гемостатических таргет-компонентов структура нановолокнистого материала не оказывает значительного влияния на свойства получаемой гемостатической пленки. На основе анализа полученных результатов предложен способ приготовления прядильного раствора.

Currently, various targeted materials, coatings and substances are being developed for the needs of biomedicine. This is due to the fact that they allow to solve a number of specific problems that there are impossible without them. Controlling the structure of materials with a target delivery mechanism makes it possible to control its main properties, which is possible by changing the method of preparing a spinning solution of a fiber-forming polymer with the addition of a target component. The experiments were carried out on the machine Fluidnatek LE-50. Images of the electrospun webs were obtained using a scanning electron microscope LEO 1420 (Carl Zeiss, Germany). It has been proven that the method of preparing the solution has an effect on the structure and morphology of the nanofibrous material with the

addition of target components. At the same time, when using hemostatic target components, the structure of the nanofibrous material does not significantly influence on the properties of the electrospun film. Based on the obtained results analyzing the method for spinning solution preparing is proposed.

Ключевые слова: электроформование, поливиниловый спирт, гемостатическая пленка, таргет-компонент.

Keywords: electrospinning, polyvinyl alcohol, hemostatic film, target component.

Одним из наиболее перспективных направлений разработки инновационных материалов для медицины является применение метода электроформования, позволяющего получать нановолокнистые материалы и покрытия разной структуры с заданным комплексом свойств. В настоящее время благодаря разнообразию свойств нановолокнистых материалов, покрытий и конструкций, они стали альтернативными терапевтическими средствами для многих сфер биомедицины [1]. Исследователями разрабатываются электроформованные материалы из натуральных и синтетических полимеров с заданной скоростью биodeградации, обладающие нетоксичностью и не вызывающие иммунного ответа у организма пациента; материалы с механизмом таргетной доставки, в которые включен специфический лекарственный компонент [2]; электроформованные конструкции, служащие подложкой для нарастания костной ткани и ткани органа, применяющиеся как *in vivo*, так и *in vitro* [3], и многие другие терапевтические средства, получаемые методом электроформования.

Структура неоднородного электроформованного материала, произведенного с включением активных веществ, позволяет обеспечить медленное и постепенное его выделение, что обуславливает хорошую впитываемость и позволяет точно рассчитать дозировку. Именно с этим и связан повышенный интерес к электроформованным волокнам со стороны биомедицины. В настоящее время ученые озабочены созданием таких терапевтических средств, которые позволят с помощью механизма таргет-доставки снизить токсическую нагрузку и связанные с ней побочные эффекты в орга-

низме пациента, а также сделать терапию интенсивной и более эффективной из-за прямой доставки лекарственного средства к пораженному органу.

Все таргет-системы, материалы, вещества и покрытия, направленные на доставку лекарства, состоят из вспомогательных веществ и таргет-частиц – микро- или наночастиц или волокон, отвечающих за непосредственный перенос лекарства. При этом, если речь идет о создании материала, то необходимо большое внимание уделить его структуре и тем волокнам, что будут ее составлять. Структура однослойных и многослойных электроформованных материалов определяет длительность и/или последовательность воздействия различных активных веществ, в связи с этим актуальным является проблема получения электроформованного неоднородного материала с заранее спрогнозированной структурой. Для биомедицины проектирование свойств получаемого материала является главным вопросом при получении материалов с механизмом таргет-доставки, поскольку получаемый материал должен отвечать строгим требованиям по его составу, времени и характеру биodeградации, ее условиям и др., а они напрямую зависят от его структуры.

В настоящее время в мире активно ведутся разработки различных таргетных материалов, покрытий и веществ для различных нужд биомедицины, поскольку это позволяет решить ряд специфических проблем, невозможных без применения таргет-компонента. Разработки, посвященные созданию таргет-систем, ведутся специалистами Китая, Канады, Южной Кореи, Японии, Индии, России, Таиланда и других стран. Исследования проводятся с исполь-

зованием микро- и нановолокон и частиц, и их результатом становятся разнообразные материалы и вещества для различных биомедицинских целей, таких как лечение раковых опухолей, воспалений кишечника, опухолей головного мозга, защиты раневых поверхностей от экзогенных организмов, доставки специфических лекарственных средств к пораженным внутренним органам и системам организма. Электроформование является одним из способов получения микро- и нановолокон, которые могут лечь в основу создания инновационного материала с механизмом таргет-доставки лекарства.

Волокна с включенным активным компонентом широко используются в фармацевтике и регенеративной медицине, таргет-системах для лечения раковых опухолей [4], стоматологии, раневой терапии, тканевой инженерии [5], для специфической постоперационной терапии [6], когда необходимо, чтобы материал с лекарственным средством оставался внутри пациента, продолжая свое действие, и при этом токсическая нагрузка и побочные эффекты были минимальными. Все это приводит к тому, что медицина нуждается в материалах с точно спроектированными характеристиками, которые будут отвечать заданным качествам и дадут необходимый терапевтический эффект. Это возможно лишь в том случае, если понимание процесса взаимодействия волокнообразующего полимера с активным компонентом будет полным, а также характеристики и качество получаемого материала будут контролируемы. Широкий спектр биodeградирующих полимеров может быть использован при электроформовании для получения материалов, покрытий, сеток и других нановолоконных конструкций с определенным расположением волокон и структурной целостностью. Поверхность нановолокна может быть спроектирована таким образом, чтобы отвечать конкретным биохимическим характеристикам.

В биомедицине и косметологии применяется огромное количество полимеров для различных назначений. Однако ко всем из

них предъявляется специфический ряд требований, обусловленный биомедицинской направленностью данных полимеров. Так, основными требованиями, предъявляемыми к нановолокнистым полимерным материалам, покрытиям и конструкциям, можно назвать следующие:

- биосовместимость;
- отсутствие токсической нагрузки на организм пациента и иммунного ответа;
- специфический характер и скорость биodeградации;
- способность выведения из организма пациента и ненакопление в тканях и органах;
- отсутствие или сведение к минимуму побочных эффектов.

Все это является узким фильтром для использования полимеров при производстве биомедицинских материалов, так как соблюдение всех данных требований является обязательным, и ни одним из них нельзя пренебречь. В некоторых случаях, если электроформованный материал или покрытие предполагают использование на коже пациента, а не внутри (при производстве перевязочных средств, ожоговой терапии, терапии диабетических ран и др.), требования к токсичности применяемого полимера могут быть снижены. Однако не только особенности полимера влияют на возможность применения его для нужд биомедицины. Нередко желаемый с точки зрения биомедицины полимер не может быть использован для получения электроформованных материалов, так как разрушается в процессе воздействия электрическим током или меняет свои свойства, или для приготовления прядильного раствора требует смешения с растворителем, не отвечающим всем требованиям безопасности.

Целью данной работы являлось исследование влияния способа приготовления волокнообразующего раствора с таргет-компонентом на структуру и морфологию нановолокнистого материала, а также на эффективность его применения в качестве гемостатической пленки.

Исследования проводились на установке для формирования нановолокнистых

материалов Fluidnatek LE-50. Электроформование на данной установке осуществляется с использованием прядильной головки, на которую подается по капилляру прядильный раствор. Высокое напряжение, прикладываемое к прядильной головке (эмиттеру), индуцирует в растворе полимера одноименные электрические заряды, которые, в результате кулоновского электростатического взаимодействия, приводят к вытягиванию раствора полимера в тонкую струю, которая впоследствии расщепляется на более тонкие струи при определенном соотношении значений вязкости, поверхностного натяжения и плотности электрических зарядов (или напряженности электростатического поля) в волокне. Полученные струи отверждаются за счет испарения растворителя, превращаются в волокна, и под действием электростатических сил дрейфуют к подложке, закрепленной на осадительном электроде.

В качестве волокнообразующего полимера при проведении исследований использовался поливиниловый спирт (ПВС) марки Arkofil PPL (Arhroma, Швейцария). Поливиниловый спирт является одним из наиболее распространенных полимеров, используемых для получения материалов медицинского назначения методом электроформования, что обусловлено его относительно низкой стоимостью и уникальными свойствами [7]. Создание концентрированных растворов полимеров с лекарственными веществами различной природы приводит к получению эффективных лечебных средств для внутреннего и наружного применения. При этом в ряде случаев физиологическая активность полимеров проявляется в активизации процессов всасывания и проникновения лекарственных средств через слизистые оболочки, кожу и др. [8]. Благодаря нетоксичности поливиниловый спирт может применяться в медицине в качестве клеев, пластырей, стерильных салфеток, хирургических нитей, фармацевтических препаратов, для изготовления плазмозаменяющих растворов [9].

В качестве таргет-компонента добавок были выбраны хлорид железа $AlCl_3$ и хло-

рид 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], а также способны вызывать денатурацию белков крови с переходом в твердое состояние, что позволяет реализоваться их гемостатическому эффекту [11].

В рамках исследования было приготовлено два волокнообразующих раствора, содержащих 14% ПВС, 1,7% хлорида алюминия и 0,8% хлорида железа.

Процесс приготовления первого раствора осуществлялся следующим образом. Вначале осуществлялось получение 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%. Далее в полученный раствор, охлажденный до комнатной температуры, добавляли порошки хлорида железа $AlCl_3$ и хлорида алюминия $FeCl_3$, после чего помешивали до полного растворения солей.

Второй исследуемый раствор был получен следующим образом. На водяной бане осуществлялось приготовление водного раствора ПВС с концентрацией 22% до полного растворения гранул полимера. Одновременно с этим в части дистиллированной воды растворялись порошки хлорида железа $AlCl_3$ и хлорида алюминия $FeCl_3$ при комнатной температуре (8,5% хлорида алюминия и 4% хлорида железа). Далее полученные растворы смешивались в соотношении 3:1.

Процесс электроформования нановолокнистых материалов из растворов, полученных обоими способами, протекал стабильно. Исследование структуры получаемых нановолокнистых материалов осуществлялось с использованием электронного сканирующего микроскопа LEO 1420 (Carl Zeiss, Германия).

На рис. 1 и 2 представлены изображения структуры нановолокнистого материала при увеличении в 15000 раз, выработанного из растворов ПВС Arkofil PPL с добавлением таргет-компонента, полученных первым и вторым способами приготовления соответственно.

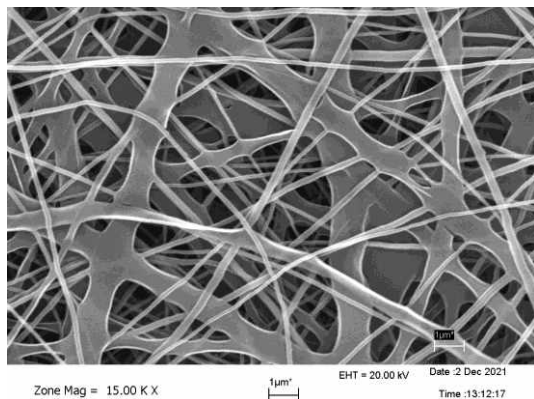


Рис. 1

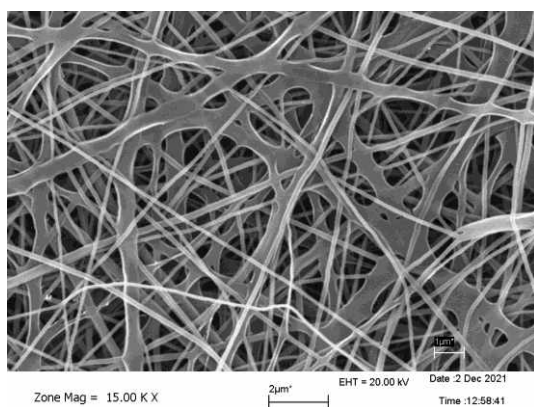


Рис. 2

Анализ полученных изображений показал, что при приготовлении прядильного раствора первым способом (рис. 1) неравномерность структуры получаемого нановолокнистого материала существенно выше, чем при использовании второго способа (рис. 2). При этом нановолокна распределены по поверхности подложки относительно равномерно в обоих случаях, однако при приготовлении волокнообразующего раствора первым способом они чаще слипаются между собой, образуя кластеры.

Средний диаметр волокна при первом способе составил 174,77 нм, а коэффициент вариации по диаметру волокна – 47,3 %. При втором способе приготовления средний диаметр волокна снизился и составил

131,64 нм, коэффициент вариации по диаметру волокна – 36,0 %. Для определения указанных статистических характеристик осуществлялись измерения 100 волокон каждого из образцов по пяти фотографиям, полученных при увеличении в 15000 раз.

Количественная оценка равномерности нановолокнистого покрытия осуществлялась на основании анализа законов распределения нановолокон по диаметру. Ранее было установлено, что раствор в зоне между эмиттером и коллектором установки может рассматриваться по аналогии с процессом дробления частиц в других отраслях производства. При этом соответствие распределения логнормальному закону может использоваться в качестве одного из критериев стабильности процесса электроформования [12].

В обоих случаях распределение волокон по диаметру соответствует логнормальному закону (рис. 3, 4), что позволяет считать процесс расщепления струи на всем пути от эмиттера до коллектора стационарным.

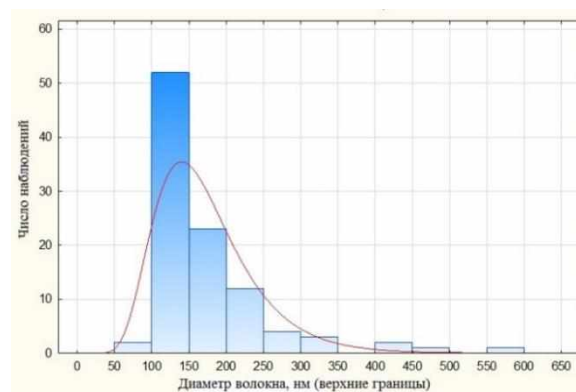


Рис. 3

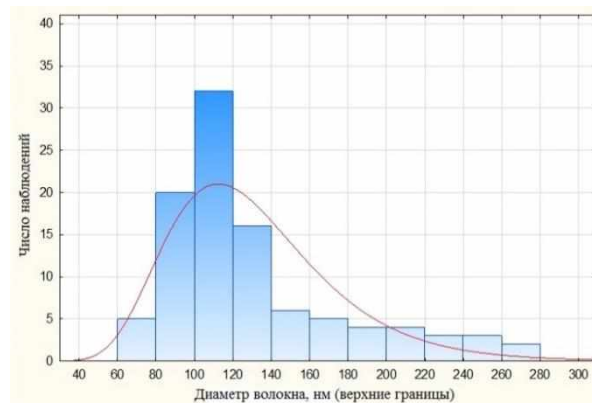


Рис. 4

На рис. 3 представлена гистограмма распределения диаметров нановолокон в образце, полученном из раствора, приготовленного первым способом, на рис. 4 – вторым способом.

Оценку специфической фармакологической активности фармацевтической композиции на основе алюминия хлорида проводили методом моделирования паренхиматозного кровотечения на печени четырех крыс. С помощью продольного разреза по белой линии живота животным выполняли лапаротомию после предварительного введения тиопенталового наркоза, дозу которого рассчитывали на килограмм массы тела. Для создания повреждения на поверхности печени данный орган выводили в просвет раны для проведения резекции скальпелем. Срезанный сегмент образовывал рану с ровными краями и равномерной кривизной, площадью около 1 см² и глубиной приблизительно 0,1 см. После проведенной манипуляции измеряли время остановки кровотечения после нанесения образца гемостатической пленки.

Установлено, что среднее время остановки кровотечения без нанесения лекарственного препарата (естественная остановка) составляет 261,8 с. При использовании пленки медицинской двух видов было отмечено ее плотное прилегание к краям раны, она не прорывалась и не растворялась потоком крови, то есть гемостаз достигался мгновенно. На 6-е сутки следов пленки на печени не наблюдалось, поэтому после использования лекарственного препарата потребность в его смывании или удалении иным способом отсутствовала в связи с биodeградируемыми свойствами материала, которые обеспечиваются видом волокнообразующего полимера и малой толщиной волокон, из которых состоит получаемая пленка. Таким образом, исследования показали, что способ приготовления прядильного раствора не оказывает значимого влияния на физико-химические, терапевтические и эксплуатационные показатели получаемых нановолокнистых гемостатических пленок.

Полученные результаты свидетельствуют о повышенной неравномерности структуры нановолокнистого материала из прядильного раствора, полученного первым способом приготовления, при сохранении качественных характеристик получаемых нановолокон, что позволяет количественно подтвердить тот факт, что способ приготовления раствора оказывает существенное влияние на структуру и морфологию нановолокнистого материала с добавлением таргет-компонентов. Однако при использовании данных таргет-компонентов структура нановолокнистого материала не оказывает существенного влияния на свойства получаемой гемостатической пленки. Следовательно, выбор способа приготовления прядильного раствора следует осуществлять исходя из его удобства.

Можно сделать вывод, что более удобным в практическом применении является первый способ приготовления прядильного раствора, так как он состоит из меньшего количества этапов. Кроме того, в случае применения второго способа необходимо повышать концентрацию поливинилового спирта в растворе до введения в него гемостатических добавок. Это приводит к затруднениям в приготовлении, увеличению времени растворения гранулы ПВС.

Следовательно, рациональным является первый из описанных в работе способ получения раствора для электроформования гемостатических пленок, который предполагает растворение функциональных добавок непосредственно в подготовленном растворе ПВС.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Juncos B.A.D., Dunne N.J., McCarthy H.O.* Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications // *Materials Science and Engineering: C*. – 2020. Art. 110994.
2. *Rahmati M., Mills D.K., Urbanska A.M., Saeb M.R., Venugopal J.R., Ramakrishna S., Mozafari M.* Electrospinning for tissue engineering applications // *Progress in Materials Science*. – 2020. Art. 100721.

3. Плотникова Е. Ю. Актуальность антацидов и альгинатов в лечении заболеваний органов пищеварения // Лечащий врач. – 2015, №2. С. 58...64.

4. Mehnath S., Chitra K., Karthikeyan K., Jeyaraj M. Localized delivery of active targeting micelles from nanofibers patch for effective breast cancer therapy // International Journal of Pharmaceutics. – 2020, 584. Art. 119412.

5. Xie X., Chen Y., Wang X., Xu X., Shen Y., Khan A.R., Aldalbahi A., Fetz A.E., Bowlin G.L., El-Newehy M., Mo X. Electrospinning nanofiber scaffolds for soft and hard tissue regeneration // Journal of Materials Science & Technology. – 2020, 59. P. 243...261.

6. Ben-Nun Y., Fichman G., Adler-Abramovich L., Turk B., Gazit E., Blum G. Cathepsin nanofiber substrates as potential agents for targeted drug delivery // Journal of Controlled Release. – 2017, 257. P. 60...67.

7. Дорошенко И.А. Влияние сшивающих агентов на набухание поливинилового спирта в воде // Вестник ВГТУ, Химическая технология и экология. – 2014, №27. С. 136...140.

8. Физиологически активные полимеры [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mplast.by/encyklopedia/fiziologicheski-aktivnyie-polimeryi/>. – Дата доступа: 10.06.2022.

9. Попова И.Н., Файнберг Е. Д., Лившиц Ю.Т. Экономика производства и применения полимеризационных пластмасс. – Ленинград: Химия, 1977.

10. Дворецкий Л. И. Сульфат железа в лечении железодефицитной анемии: позиции сохраняются // Терапевтический архив. – 2017, №10. С. 108...112.

11. Демидова М.А., Новицкая В.А., Рыклин Д.Б., Гвоздев С.В. Получение гемостатических пленок методом электроформования // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы. – 2021. С. 181...186.

12. Рыклин Д.Б., Демидова М.А., Азарченко В.М., Скроцкая К.В. Обоснование закона распределения нановолокон по диаметру в материалах, полученных методом электроформования // Изв. вузов. Технология текстильной промышленности. – 2021, №4. С. 121...128.

REFERENCES

1. Juncos B.A.D., Dunne N.J., McCarthy H.O. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications // Materials Science and Engineering: C. – 2020. Art. 110994.

2. Rahmati M., Mills D.K., Urbanska A.M., Saeb M.R., Venugopal J.R., Ramakrishna S., Mozafari M. Electrospinning for tissue engineering applications // Progress in Materials Science. – 2020. Art. 100721.

3. Plotnikova E.U. The relevance of antacids and alginates in the examination of the digestive organs // Attending physician. – 2015? №2. P. 58...64.

4. Mehnath S., Chitra K., Karthikeyan K., Jeyaraj M. Localized delivery of active targeting micelles from nanofibers patch for effective breast cancer therapy // International Journal of Pharmaceutics. – 2020, 584. Art. 119412.

5. Xie X., Chen Y., Wang X., Xu X., Shen Y., Khan A.R., Aldalbahi A., Fetz A.E., Bowlin G.L., El-Newehy M., Mo X. Electrospinning nanofiber scaffolds for soft and hard tissue regeneration // Journal of Materials Science & Technology. – 2020, 59. P. 243...261.

6. Ben-Nun Y., Fichman G., Adler-Abramovich L., Turk B., Gazit E., Blum G. Cathepsin nanofiber substrates as potential agents for targeted drug delivery // Journal of Controlled Release. – 2017, 257. P. 60...67.

7. Doroshenko I.A. Influence of cross-linking agents on the swelling of polyvinyl alcohol in water. Vestnik VSTU, Chemical technology and ecology. – 2014, № 27. P. 136...140.

8. Physiologically active polymers [Electronic resource]. – Access mode: <https://mplast.by/encyklopedia/fiziologicheski-aktivnyie-polimeryi/>. – Access date: 06.10.2022.

9. Popova I.N., Fainberg E.D., Livshits U.T. Economics of production and use of polymerization plastics // Leningrad: Chemistry, 1977.

10. Dvoretzky L.I. Ferrous sulfate in the treatment of iron deficiency anemia: positions are preserved // Therapeutic archive. – 2017, № 10. P. 108...112.

11. Demidova M.A., Novitskaya V.A., Ryklin D.B., Gvozdev S.V. Obtaining hemostatic films by electrospinning // Physics of fibrous materials: structure, properties, high technologies and materials. – 2021. P.181...186.

12. Ryklin D.B., Demidova M.A., Azarchenko V.M., Skrotskaya K.V. The law substantiation of nanofibers distribution by diameter in materials obtained by method electroformations // Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii, Seriya Tekhnologiya Tekstil'noi Promyshlennosti. – 2021, №4. P. 121...128.

Рекомендована кафедрой технологии текстильных материалов Витебского государственного технологического университета. Поступила 11.08.22