

І.І. Геращенко¹, О.М. Чепляка², К.О. Степанюк², Є.М. Пахлов¹, Т.В. Крупська¹

ВИГОТОВЛЕННЯ, ФІЗИКО-ХІМІЧНЕ ТА БІОМЕДИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ГЕМОСТАТИЧНОЇ ПОРОШКОВОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ НАНОКРЕМНЕЗЕМУ

¹ Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, E-mail: igorgera57@ukr.net

² Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна

Крововтрата є однією з основних причин смерті, особливо в умовах війни та стихійних лих. На початку повномасштабної російсько-української війни нами було налагоджено лабораторне, а згодом й промислове виготовлення порошкової кровостинної композиції місцевої дії на основі нанокремнезему, яка призначена для надання першої домедичної допомоги. Композиція містить два активні інгредієнти – нанорозмірний кремнезем марки А-300 та альгінат натрію у масовому співвідношенні 4:1. Метою роботи було опрацювання оптимального технологічного процесу виробництва кровостинної композиції та проведення фізико-хімічних та медико-біологічних досліджень напівпродуктів і готового продукту.

Для вивчення вихідних речовин, напівпродуктів та готового продукту застосовували вимірювання насипної густини, оптичну мікроскопію, метод ІЧ-спектроскопії, мікробіологічні дослідження. Ефективність гемостатичної дії композиції перевіряли на моделі паренхіматозної кровотечі з печінки щура, використовуючи як критерій час зупинки кровотечі (хв).

В результаті дослідження запропоновано двостадійний спосіб одержання композиції: на першій стадії певні частки вихідних речовин перемелюють у кульовому млині, одержуючи напівпродукт «А-300/альгінат натрію»; на другій стадії даний напівпродукт перемішують з нанокремнеземом та альгінатом натрію, отримуючи кінцевий продукт. Показано, що насипна густина служить корисним технологічним параметром, моніторинг якого допомагає одержати структурно однорідний кінцевий продукт. В ІЧ-спектрах напівпродукту і готового продукту спостерігаються тільки смуги поглинання кремнезему і альгінату натрію, тобто під час технологічних операцій сторонні речовини не утворюються. Мікробіологічна чистота композиції відповідає фармакопейним вимогам щодо препаратів даної категорії. Експериментальне вивчення кровостинної дії композиції виявило її значну перевагу порівняно з гемостатиком неорганічної природи каоліном, який діє за схожим адсорбційним механізмом.

Ключові слова: гемостатична композиція, адсорбція, нанокремнезем, альгінат натрію, виробничий процес, насипна густина, оптична мікроскопія, ІЧ-спектроскопія, мікробіологічна чистота, паренхіматозна кровотеча

ВСТУП

В умовах воєнного стану існує постійна потреба у засобах екстреної допомоги при пораненнях, серед яких кровостинні засоби посідають провідне місце. Поряд з механічними кровостинними засобами – джгутами і турнікетами – не втратили актуальність хімічні гемостопа у формі порошку, серветки чи бинта. Переваги хімічних гемостопів полягають у тому, що, по-перше, їхнє застосування не супроводжується ішемією кінцівки, що уможливує тривалу евакуацію потерпілого до безпечного місця, а, по-друге, вони спроможні зупинити «вузлові» та інші кровотечі, де механічні засоби

застосувати неможливо [1]. Серед хімічних гемостатичних субстанцій можна виділити наступні групи: 1) органічні полімери натурального і синтетичного походження (окиснена целюлоза, віскоза, хітозан, альгінова кислота та її солі, фібриноген, колаген, желатина, полівініловий спирт тощо); 2) неорганічні мікронізовані матеріали (цеоліти, каолін, різні форми діоксиду кремнію – силікагель, високодисперсний кремнезем); 3) хімічні субстанції простої будови (амінокапронова кислота, амбен) [2, 3].

Механізм гемостатичної дії полімерів переважно неспецифічний – вони утворюють гідрогель, який закупорює капіляри і дрібні кровоносні судини, прилипають до поверхні

рани. Серед гемостатиків місцевої дії, що належать до полімерів натурального походження, заслуговує на увагу альгінат натрію (натрієва сіль альгінової кислоти) – полісахарид, для здобування якого як сировину використовують бурі морські водорості (рис. 1). Окрім високої гідрофільності і здатності легко утворювати гель, корисними характеристиками альгінату натрію є біосумісність та неімуногенність [4–6]. Запропоновано чимало різноманітних композиційних матеріалів медичного призначення, що містять альгинати. Зокрема, повідомляється про створення композитного біоматеріалу на основі гідроксиапатиту, що містить хлоргексидин та альгінат натрію і який можна застосовувати як систему доставки ліків у стоматологічній практиці [7]. В іншій роботі [8] було синтезовано та досліджено механічні властивості нанокомпозиту на основі апатиту, наповненого карбонатами міді і цинку та альгінатом натрію. На першій стадії синтезу на матриці з кальцію фосфату, що містить карбонат натрію, з водного розчину адсорбували іони Cu^{2+} і Zn^{2+} ; потім отриманий напівпродукт

просочували альгінатом натрію. Показано, що синтезований матеріал характеризується одночасно високою механічною міцністю і здатністю до пластичної деформації. Альгінатвмісний нанокомпозит на основі кальцію фосфату зі структурою апатиту, що містить карбонат натрію, може бути використаний як ефективний імплантний матеріал для відновлення кісток [9]. Повідомляється про створення нетканого гемостатичного компресу на основі альгінату кальцію, збагаченого глюконатом кальцію: спочатку одержували волокна альгінату кальцію в результаті екструзії розчину, що містить альгінат натрію і хлорофілін міді (E 141), через фільтру в хлоридно-кальцієвій ванні; потім з цих волокон виготовляли компрес, на який наносили глюконат цинку методом напилення [10]. Запропоновано гемостатичний засіб у вигляді мікросфер, що містять альгінат цинку і хітозан; показано, що нова форма набагато швидше призводить до згортання крові *in vitro* та *in vivo* порівняно з альгінатом [11]. Слід також згадати доступність альгінату натрію, який широко використовується як дієтична добавка.

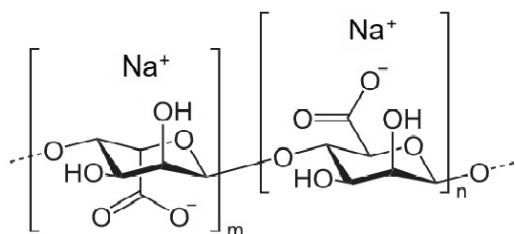


Рис. 1. Альгінат натрію

Для неорганічних матеріалів характерний адсорбційний механізм кровоспинної дії. Цей механізм полягає у тому, що на поверхні частинок матеріалу адсорбується XII-й фактор коагуляції крові (фактор Хагемана, профермент), який при цьому активується завдяки розгортанню білкової глобули на поверхні з відкриттям кращого доступу до активного центра ферменту. Фактор Хагемана, будучи тригерним білком, запускає каскад послідовних реакцій, внаслідок яких утворюється згусток крові [12] – саме за таким механізмом діє нанорозмірний (високодисперсний) кремнезем. У роботі [13] детально досліджено залежність ступеня активації процесу згортання крові від типу

кремнеземного матеріалу, його питомої поверхні і розміру частинок. Оскільки розмір питомої поверхні нанокремнезему і щільність укриття її центрами адсорбції – гідроксильними групами – значно вищі, ніж в інших мікронізованих неорганічних матеріалів, можна передбачити його виразніший кровоспинний ефект. Передумовою створення гемостатичних засобів на основі високодисперсного нанорозмірного кремнезему є добре перевірена біосумісність цього матеріалу, а також його широке застосування в різних галузях медицини, наприклад у гнійній хірургії, як у вигляді індивідуальної речовини, так і в складі комплексних препаратів [14, 15]. Останнім часом як перспективний напрямок

розглядається створення композицій на основі нанокремнезему, що містять невеликі добавки фулеренів – такі композити дозволяють, зокрема, регулювати співвідношення між сильно- і слабкозв'язаними кластерами води, адсорбованими молекулами ДНК [16, 17].

Таким чином, на підставі розглянутих вище літературних даних ми припускаємо, що поєднанням в одній лікарській формі нанорозмірного кремнезему і альгілату натрію можна отримати новий перспективний гемостатичний засіб, який відрізнявся би ефективністю, відносною дешевизною і доступністю. Метою роботи було опрацювання оптимального технологічного процесу виробництва кровоспинної композиції на основі нанокремнезему і альгілату натрію у вигляді порошку та проведення фізико-хімічних та медико-біологічних досліджень напівпродуктів і готового продукту.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Як вихідні речовини використовували пірогенний високодисперсний кремнезем марки А-300 (Калуський експериментальний завод ІХП ім. О.О. Чуйка НАН України) та натрію альгілат (Е 401) («Аgnex», Польща).

Для дезінфекції обладнання та інвентарю застосовували спирт етиловий 70 % (АТ «Лубнифарм», Україна).

У процесі лабораторного виготовлення лікарського засобу було задіяне наступне обладнання: ваги аналітичні, сухожарова шафа, кульовий млин з порцеляновим барабаном об'ємом 5 л, багатофункціональний стаціонарний змішувач потужністю до 700 Вт. Для промислового виробництва використовували кульовий млин зі сталевим барабаном об'ємом 100 л, міксер стрічкового типу об'ємом 150 л і максимальною частотою 50 об/хв, сушильну шафу об'ємом 300 л і максимальною температурою 300 °С. Для зберігання напівфабрикатів і кінцевого продукту застосовували пластикові контейнери з кришками для сипких матеріалів (20–100 л). Для фасування готової композиції використовували пластикові флакони коричневого кольору місткістю 60 мл, що закупорювалися пластмасовими кришками. Також застосовували необхідний лабораторний посуд.

Для визначення насипної густини вихідних речовин, напівпродукту та готового

продукту за основу брали методичний підхід, наведений в ГОСТ 14922–77 [18]. Зважували порожній градуйований циліндр. Циліндр через лійку заповнювали порошком до мітки «50 мл», залишали на 10 хв; потім легким постукуванням обережно вирівнювали поверхню порошку і визначали об'єм, який він займає. Циліндр з пробою знову зважували, за різницею визначали масу порошку. Розрахунок насипної густини ρ (г/л) проводили за формулою:

$$\rho = m/V,$$

де m – маса наважки порошку, г; V – об'єм, який займає порошок, л.

Як результат брали середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень.

Мікрофотографії порошоків одержували за допомогою приладу Primo Star (Zeiss, Німеччина) у режимах відбиття ($\times 100$) і пропускання ($\times 1000$) світла. У режимі пропускання застосовували імерсійну олію.

Спектральні дослідження в інфрачервоному (ІЧ) діапазоні виконували на приладі FTIR Nicolet iS10 (Thermo Scientific, США) з використанням приставки порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ) ATR Smart iTX (кристал алмаз) в діапазоні 4000–400 см^{-1} , 32 скани, роздільна здатність 4 см^{-1} .

Випробування мікробіологічної чистоти готового продукту проводили згідно з методиками, наведеними в статтях 2.6.12, 2.6.13 та 5.1.4 Державної Фармакопеї України (ДФУ) [19, 20]. Застосовували метод прямого посіву з використанням буферного розчину з додаванням 3 % полісорбату-80, 0.3 % лецитину та 0.1 % гістидину. Як живильні середовища використовували: соєво-казеїновий агар, агар Сабуро з декстрозою, соєво-казеїновий бульйон, манітно-сольовий агар, цетримідний агар.

Експериментальне дослідження ефективності гемостатичної композиції проводили на моделі паренхіматозної кровотечі з печінки щура [21] на базі експериментально-клінічної лабораторії ВНМУ імені М.І. Пирогова. У експериментах *in vivo* використовували білих лабораторних щурів, лікарські засоби для наркозу, інструменти, медичні серветки та інші матеріали, необхідні для проведення хірургічних втручань. На верхній частині печінки робили зріз, на який одразу наносили

досліджуваній порошковий препарат. Для оцінки кровоспинної дії застосовували показник часу зупинки кровотечі (хв). Як засіб порівняння використовували каолін у вигляді порошку, який є діючою речовиною гемостатичного бинта Quick Clot® Combat Gauze (США). У контрольному досліді на рану, що кровоточить, накладали серветку без застосування гемостатика місцевої дії.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Технологічна частина. Нанорозмірний кремнезем попередньо прогрівали при 180 °С протягом 1 год з метою його стерилізації та видалення летких домішок. Охолоджену речовину поміщали у стерильний пластиковий контейнер; цю стадію виконували регулярно, заздалегідь накопичуючи стерильний А-300 для подальшого використання.

У лабораторних умовах нами випробувано дві методики виготовлення препарату. Згідно з першою, термічно оброблений А-300 і альгінат натрію у масовому співвідношенні 80 : 20 перемішували у стаціонарному змішувачі протягом 30 хв, одержуючи кінцевий продукт.

Згідно з другою методикою, певні частки компонентів перемелювали у кульовому млині, одержуючи напівпродукт «А-300/альгінат натрію»; потім перемішували даний напівпродукт з нанокремнеземом та альгінатом натрію, отримуючи кінцевий продукт з тим самим складом, що й за першою методикою.

Ідея проведення сумісної механохімічної обробки вихідних речовин у кульовому млині полягала у тому, щоб поєднати у порошковій суміші компоненти з доволі різною щільністю і розміром частинок, тобто отримати наскільки це можливо однорідну композицію. У промисловості для вирішення цієї проблеми застосовують, зокрема, грануляцію одного з компонентів та інші прийоми. У даному випадку це вирішувалось виготовленням проміжного продукту.

Для виготовлення напівпродукту стерильний А-300 і альгінат натрію у масовій пропорції 1.6:1 (пропорція може бути іншою) перемелювали у кульовому млині протягом 30 хв. Одержаний напівпродукт «А-300/альгінат натрію» переносили у пластиковий контейнер з кришкою, заздалегідь накопичуючи його для подальшого використання.

На заключному етапі стерильний А-300, напівпродукт «А-300/альгінат натрію» і альгінат натрію у масовому співвідношенні 64:26:10 перемішували у міксері протягом часу, достатнього для одержання однорідного за насипною густиною продукту (див. нижче), але не менше 15 хв. Таким чином, готова композиція містить 80 мас. % А-300 і 20 мас. % натрію альгілату, цей склад захищено патентом [22]. Саме другу методику виготовлення композиції було згодом реалізовано в заводських умовах.

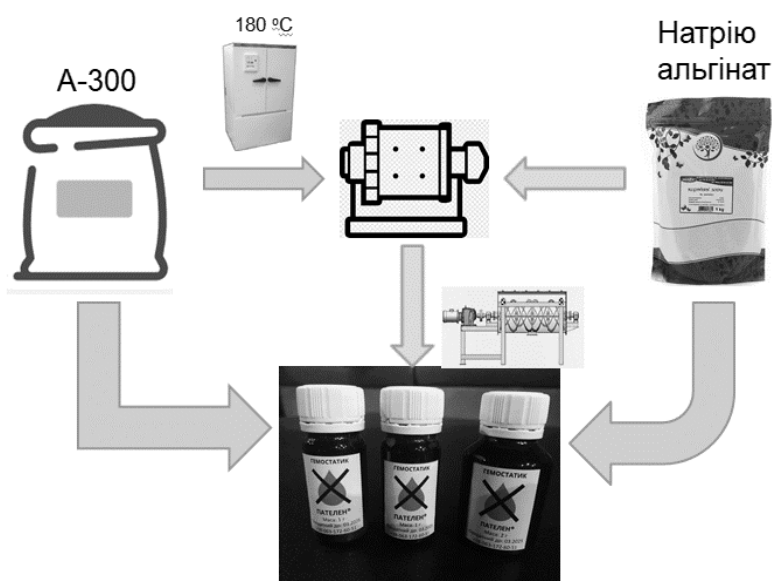


Рис. 2. Загальна схема промислового виробництва гемостатичної композиції

Готову композицію одразу після приготування фасували по 2 г у пластикові флакони, закривали кришками, наносили етикетки і передавали на склад. Для запобігання можливому розшаруванню композиції вживають наступні заходи. Якщо доводиться фасувати композицію, виготовлену заздалегідь, то тоді безпосередньо перед фасуванням її перемішують у міксері 10–15 хв. Під час фасування невеликі контейнери, з яких набирають препарат, періодично струшують вручну. Згідно з інструкцією для застосування флакон з препаратом перед його відкриттям різко струшують. Відхилення від номінального вмісту інгредієнтів та у масі дозованого продукту мають відповідати вимогам ДФУ. Загальну схему промислового виробництва композиції представлено на рис. 2.

Фізико-хімічні та мікробіологічні дослідження. Для моніторингу виробничого процесу, пов'язаного з порошками, доволі корисним методом служить визначення насипної густини. Цей показник відображає рівномірність розподілу компонентів в об'ємі і дозволяє контролювати однорідність змішування на заключному етапі виробництва та стабільність продукту при зберіганні. Як відомо, насипна густина порошків залежить як від густини частинок, так і від їхнього просторового розташування у шарі порошку [23, 24].

Контроль однорідності перемішування і відсутності розшарування композиції при її зберіганні здійснювали наступним чином. З верхнього шару готового продукту, який деякий час зберігали у невеликому контейнері, відбирали пробу, для якої вимірювали насипну густину; пробу повертали до контейнера. Різко струшували і перевертали контейнер декілька разів упродовж 30 с. Контейнер залишали на 15 хв для повного завершення процесу ущільнення продукту, повторно відбирали пробу і вимірювали її насипну густину. Результати визначення насипної густини вихідних продуктів, напівпродукту і готового продукту, одержаного за обома методиками в лабораторних умовах, наведені в табл. 1.

Як видно, для композиції, одержаної простим змішуванням вихідних речовин, у кожному з чотирьох вимірювань показник насипної густини верхнього шару щойно гомогенізованого продукту перевищує показник композиції, яка зберігалась деякий час, що може бути наслідком її певного розшарування. Ця обставина спонукала нас перейти до другої методики, яка передбачає виготовлення напівпродукту з проміжним значенням насипної густини і яка потім була покладена в основу серійного виготовлення композиції в заводських умовах.

Таблиця 1. Моніторинг показника насипної густини вихідних речовин і напівпродукту (а) та готового продукту (б) в процесі лабораторного виготовлення композиції

а)

Матеріал	Кількість зразків	Насипна густина, min–max, г/л
А-300 (партії №№ 1–2)	5	40.0–47.6
Альгінат натрію (партії №№ 1–4)	4	605–793
Напівпродукт «А-300/альгінат натрію»	2	108;173

б)

Матеріал	Кількість зразків	Насипна густина (г/л) верхнього шару продукту	
		До струшування	Після струшування
Продукт, одержаний за методикою I	4	50.3	52.5
		50.8	51.1
		49.9	50.5
		48.2	51.6
Продукт, одержаний за методикою II	8	46.0–54.7 ^{*)}	

^{*)} Показники до і після струшування практично однакові

Результати вивчення зразків вихідних речовин, напівпродукту і готового продукту методом оптичної мікроскопії наведено на рис. 3 і 4. На зображеннях вихідного А-300 (рис. 3 а, 4 а) видно скупчення агломератів частинок переважно округлої форми. На зображенні вихідного альгінату натрію, одержаному в режимі відбиття (рис. 3 б), добре видно окремі волокна та їхнє переплетення, що характерно для полімерів рослинного походження; в режимі пропускання (рис. 4 б) можна розгледіти структуру поодинокого волокна. Напівпродукт «А-300/альгінат натрію» представлений великими напівпрозорими хмароподібними утвореннями, на тлі яких проглядаються поодинокі волокна альгінату натрію (рис. 3 в,); на рис. 4 в імовірно представлено альгінатне волокно, поєднане з кремнеземом. Готовий продукт (рис. 3 г) представлений рівномірною сумішшю напівпрозорих утворень округлої форми (агломерати А-300 і напівпродукт «А-300/альгінат натрію»), а також відносно

великих частинок неправильної, іноді видовженої, форми (альгінат натрію). Одержати якісне зображення готового продукту в режимі пропускання доволі важко через різну глибину розташування частинок інгредієнтів, що формують композицію. Можна припустити, що на фотографії (рис. 4 г) представлено непрозоре альгінатне волокно на тлі агломератів А-300 і напівпродукту.

На рис. 5 наведено ІЧ-спектри вихідних речовин, напівпродукту виробництва і готового продукту. Спектр альгінату натрію (рис. 5 а) відповідає спектрам полісахаридів, де спостерігаються характерні смуги поглинання O-C-O –сахаридного кільця біля 1600 см^{-1} , деформаційні коливання груп $\text{R}_3\text{C-H}$ з максимумом 1406 см^{-1} та інтенсивні коливання зв'язку C-O з максимумом близько 1025 см^{-1} . Крім того, спостерігається широка смуга коливань спиртових груп C-OH , пов'язаних між собою водневими зв'язками, і малоінтенсивні валентні коливання групи C-H .

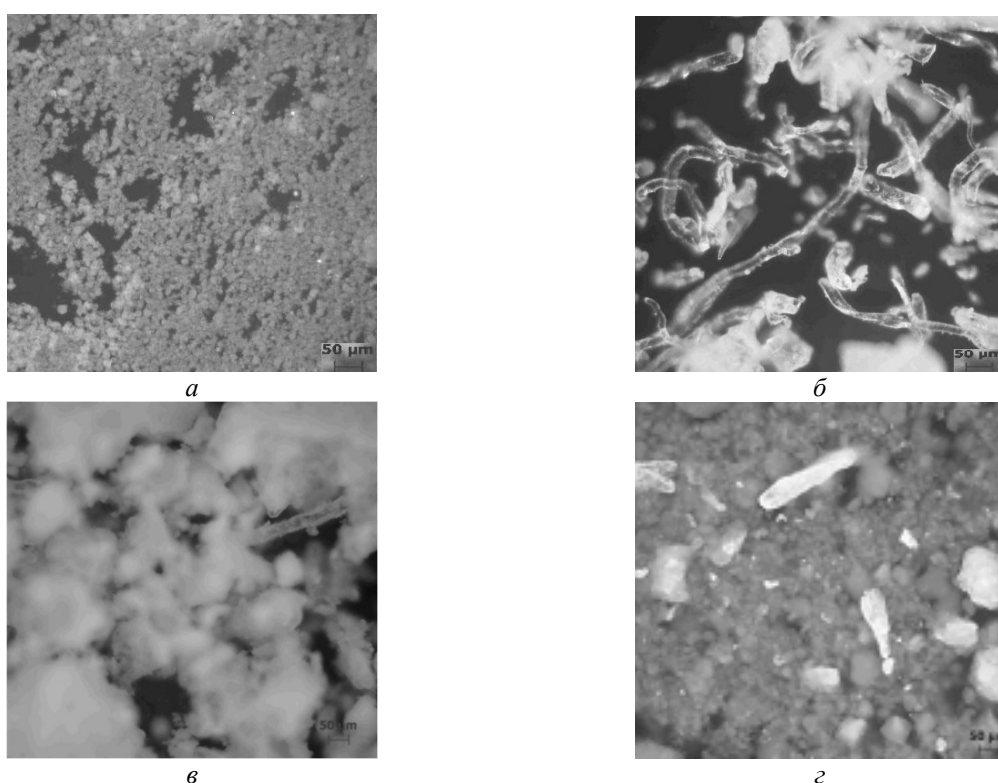


Рис. 3. Зображення порошкоподібних речовин, одержані у режимі відбиття світла ($\times 100$): нанокремнезем А-300 після стерилізації (а); альгінат натрію (б); напівпродукт «А-300/натрію альгінат» (в); готовий продукт – гемостатична композиція (г)

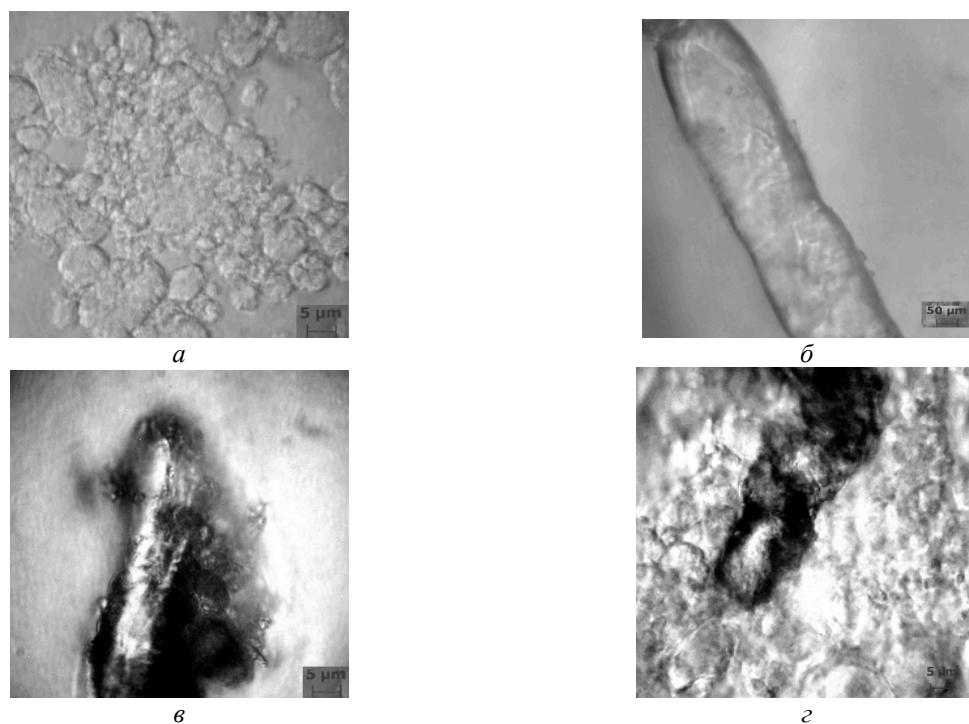


Рис. 4. Зображення порошкоподібних речовин, одержані у режимі пропускання світла ($\times 1000$): нанокремнезем А-300 після стерилізації (а); альгінат натрію (б); напівпродукт «А-300/натрію альгінат» (в); готовий продукт – гемостатична композиція (г)

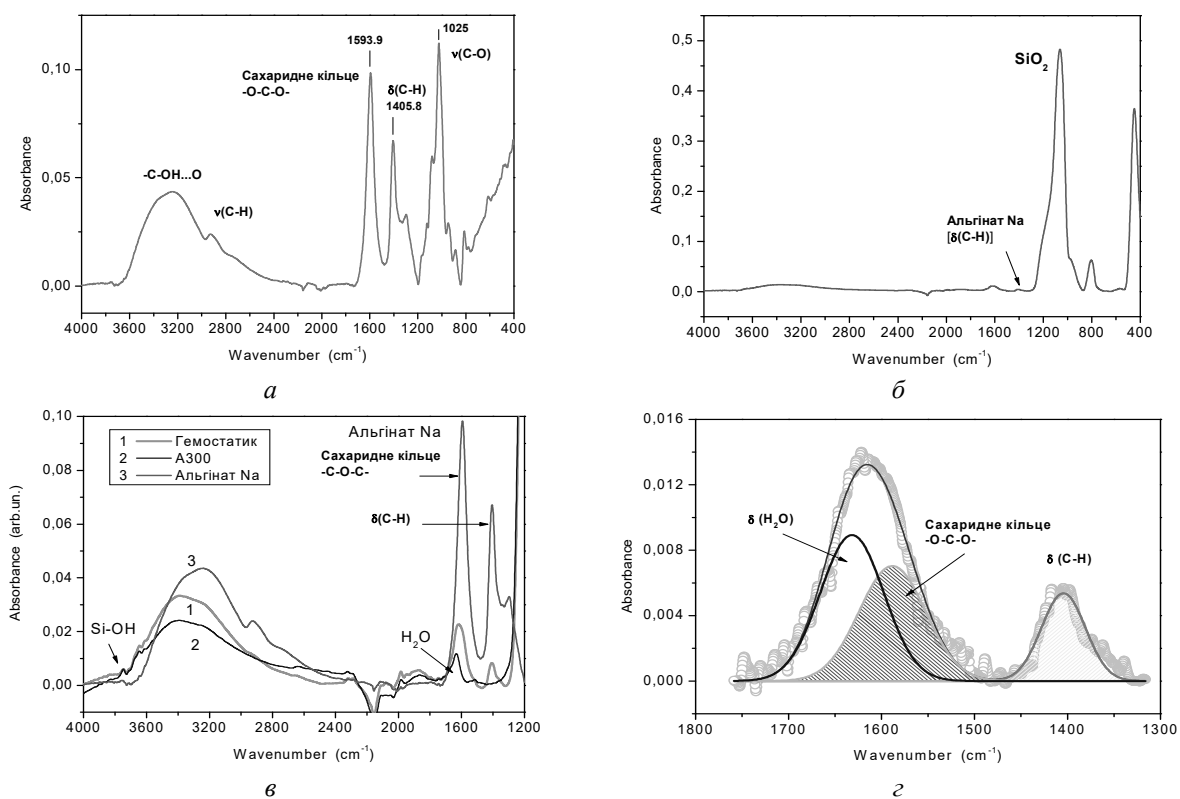


Рис. 5. ІЧ-спектри альгінату натрію (а); напівпродукту «А-300/натрію альгінат» (б); готового продукту – гемостатичної композиції – у порівнянні з вихідними речовинами (в); розкладання спектра гемостатичної композиції у діапазоні $1800\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ (г)

У спектрах порошків напівпродукту і гемостатичної композиції (рис. 5 б, в) через особливості методу ППВВ ми не спостерігаємо смуг поглинання силанольних груп кремнезему і валентних коливань С–Н груп альгінату натрію (вони слабоінтенсивні і в спектрі чистого альгінату). Інші смуги коливання альгінату маскуються деформаційними коливаннями сорбованих молекул води біля 1630 см^{-1} та інтенсивними смугами поглинання Si–O кремнезему близько 1100 см^{-1} . Спостерігається тільки одна смуга поглинання деформаційних коливань С–Н груп альгінату біля 1400 см^{-1} . Ця смуга дуже малої інтенсивності, але її можна побачити якщо виділити цей діапазон хвильових чисел і зменшити шкалу інтенсивності (рис. 5 в). На рис. 5 г представлений спектр гемостатичної композиції у діапазоні $1800\text{--}1300\text{ см}^{-1}$.

Розкладання спектра виявляє смуги поглинання молекул води і сахаридного кільця. В ІЧ-спектрах напівпродукту і гемостатичної композиції присутні лише смуги поглинання вихідних речовин – нанокремнезему і альгінату натрію; це свідчить, що під час їхньої сумісної обробки в кульовому млині сторонні продукти не утворюються.

Результати випробування мікробіологічної чистоти (табл. 2) підтверджують відсутність у складі препарату патогенних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*, загальне число непатогенних аеробних мікроорганізмів, дріжджових і пліснявих грибів знаходиться в межах норми, прийнятої для нестерильних препаратів для місцевого застосування (ДФУ, п. 5.1.4) [20].

Таблиця 2. Результати випробування мікробіологічної чистоти

Мікроорганізми	Вимоги згідно ДФУ (5.1.4)	Результат
Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів	Не більше 10^2 КУО/г	Менше 5 КУО/г
Загальне число дріжджових і пліснявих грибів	Не більше 10^1 КУО/г	Менше 5 КУО/г
<i>Staphylococcus aureus</i>	Не допускається наявність в 1 г	Відсутні
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Не допускається наявність в 1 г	Відсутні

КУО – колонієутворююча одиниця

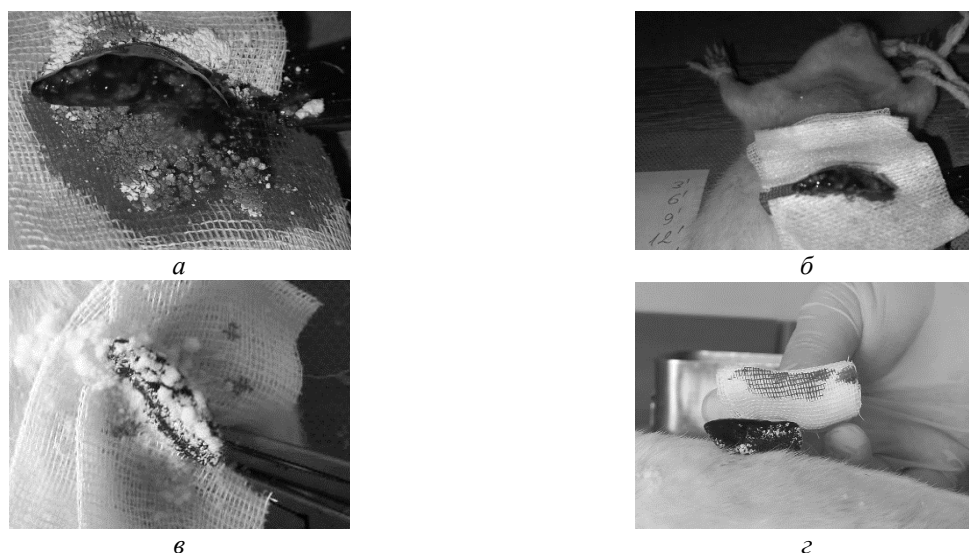


Рис. 6. Результат застосування гемостатичних засобів при паренхіматозній кровотечі: каолін, 6-а хвилинка, рясне просочення серветки кров'ю (а); каолін, 15-а хвилинка, кровотечка не припиняється (б); композиція, 3-я хвилинка, припинення кровотечі (в); композиція, 15-а хвилинка, кровотечі немає (з)

Дослідження гемостатичної дії композиції.

Порівняльне дослідження ефективності гемостатичної композиції і каоліну на моделі паренхіматозної кровотечі з печінки щура виявило значну перевагу створеного препарату. Так, час зупинки кровотечі при застосуванні композиції становив 3–4 хв, а для зразків каоліну кровотеча не припинялася до 15-ої хвилини експерименту (рис. 6).

Наприкінці узагальнимо переваги нанокремнезему порівняно з каоліном в аспекті створення на їхній основі гемостопів шляхом нанесення активної субстанції на інертний носій (бинт, серветка, тампон тощо). Сумарний розмір поверхні частинок, від якого безпосередньо залежить реалізація адсорбційного механізму гемокоагуляції, у нанокремнезему набагато більший, ніж у каоліну. Нанокремнезем паралельно з гемостазом проводить активну детоксикацію ранового вмісту шляхом адсорбції патогенних речовин білкової природи і мікроорганізмів (у цій роботі не досліджували) – ця властивість у каоліну виражена слабко [14, 25]. Гідрофільність нанокремнезему значно вища і тому ефект гемоконцентрації як одного з чинників гемостазу проявляється сильніше.

ВИСНОВКИ

Опрацьовано лабораторну та заводську технології виготовлення кровоспинної

композиції місцевої дії у вигляді порошку, до складу якої входять нанорозмірний кремнезем і альгінат натрію. Вимірювання насипної густини служить інформативним технологічним параметром, який допомагає одержати однорідний кінцевий продукт. В ІЧ-спектрах як напівпродукту, так і готового продукту спостерігаються тільки смуги поглинання кремнезему і альгінату натрію, тобто під час технологічних операцій сторонні речовини не утворюються. Мікробіологічна чистота готової композиції відповідає фармакопейним вимогам щодо препаратів даної категорії. На моделі паренхіматозної кровотечі з печінки щура продемонстровано виражену місцеву гемостатичну дію розробленої композиції, яка перевершує даний ефект для каоліну. Нанорозмірний кремнезем розглядається нами як більш перспективний матеріал порівняно з каоліном для створення на їхній основі хімічних гемостопів наступного покоління.

ПОДЯКА

Автори вдячні ТОВ «Київфармгруп» за забезпечення процесу промислового виробництва композиції та спільному українсько-іспанському підприємству ТОВ «СПЕРКО Україна» (м. Вінниця) за проведення мікробіологічних досліджень.

Production, physico-chemical and biomedical study of hemostatic powder composition based on nanosized silica

I.I. Gerashchenko, O.M. Chepliaka, K.O. Stepanyuk, **E.M. Pakhlov**, T.V. Krupska

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, igorgera57@ukr.net
Vinnytsia National Pyrohov Memorial Medical University
56 Pyrohov Str., Vinnytsia, 21018, Ukraine*

Blood loss is one of the main causes of death, especially in war and natural disasters. At the beginning of the full-scale Russian-Ukrainian war we established the laboratory and later the industrial production of a powdered topical hemostatic composition based on nanosilica which is intended for providing first pre-medical aid. The composition contains nanosized silica A-300 and sodium alginate as two active ingredients in a mass ratio of 4:1. The aim of the work was to develop the optimal technological process for the production of a hemostatic composition and carry out physico-chemical and medical-biological studies of semi-finished products and the final product.

Bulk density measurements, optical microscopy, IR spectroscopy method and microbiological research were used to study the initial materials, intermediate products as well as the final product. The effectiveness of the hemostatic effect of

the composition was checked on the model of parenchymal bleeding from the liver of a rat, using the time to stop bleeding (min) as a criterion.

As a result of the research, a two-stage method of manufacturing the composition is proposed: at the first stage, certain parts of the initial materials are treated in a ball mill, obtaining the semi-finished product "A-300/sodium alginate"; at the second stage, this semi-finished product is mixed with nanosilica and sodium alginate, obtaining the final product. It is shown that the bulk density serves as a useful technological parameter to control of which helps to produce a structurally homogeneous final product. In the IR spectra of the semi-finished product and the finished product, only the absorption bands of silica and sodium alginate are observed, that is, foreign substances are not formed during technological process. The microbiological purity of the composition meets the pharmacopoeial requirements for drugs of this category. An experimental study of the topical hemostatic effect of the composition revealed its significant advantage compared to the inorganic hemostatic substance kaolin, which acts according to a similar adsorption mechanism.

Keywords: hemostatic composition, adsorption, nanosilica, sodium alginate, manufacturing process, bulk density, optical microscopy, IR spectroscopy, microbiological purity, parenchymal bleeding

ЛІТЕРАТУРА

1. Тарасюк В.С., Матвійчук М.В., Паламар І.В. та ін. Перша екстрена і тактична медична допомога на догоспітальному етапі. – Київ: ВСВ «Медицина», 2021. – 358 с.
2. Карпюк У.В., Кисличенко В.С. Аналіз асортименту лікарських засобів гемостатичної дії // Мед. Клін. Хімія. – 2017. – Т. 19, № 2. – С. 53–59.
3. Paul W., Sharma P. Chandra. Advances in Wound Healing Materials: Science and Skin Engineering // Smithers Rapra Technology Ltd Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, SY4 4NR. – UK: ©Smithers Information Ltd., 2015. – P. 90–99, 103–112.
4. Мартинюк О.О., Суходуб Л.Б., Суходуб Л.Ф. Нанокompозитні матеріали на основі гідроксиапатиту та альгінату натрію: синтез і характеристика // Біофіз. Вісн. – 2015. – Т. 1, № 33. – С. 48–59.
5. Holban A., Grumezescu A.M. Materials for Biomedical Engineering: Hydrogels and Polymer-Based Scaffolds // Elsevier. – Netherlands, UK, USA: Copyright© 2019 Elsevier Inc., 2019. – P. 43–44, 404–417.
6. Zhong Yu., Hu H., Min N. et al. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review // Ann. Transl. Med. – 2021. – V. 9, N 7. – P. 577–579.
7. Sukhodub L.F., Sukhodub L.B., Litsis O., Prylutskyy Yu. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-alginate nanostructured composites for the controlled drug release // Mater. Chem. Phys. – 2018. – V. 217. – P. 228–234.
8. Strutynska N., Livitska O., Vovchenko L. et al. Novel Nanostructured Na⁺, Cu²⁺(Zn²⁺), CO₃²⁻-HAP/Alginate Composite Scaffold: Fabrication, Characterization and Mechanical Properties // Chem. Select. – 2019. – V. 4, Issue 39. – P. 11435–11440.
9. Strutynska N., Malyschenko A., Tverdokhle N. et al. Design, characterization and mechanical properties of new Na⁺, CO₃²⁻-apatite/alginate/C₆₀ fullerene hybrid biocomposites // J. Korean Ceram. Soc. – 2021. – V. 58. – P. 422–429.
10. Ponsen A.-Ch., Proust R., Soave S. et al. A new hemostatic agent composed of Zn²⁺-enriched Ca²⁺ alginate activates vascular endothelial cells *in vitro* and promotes tissue repair *in vivo* // Bioact. Mater. – 2022. – V. 18. – P. 368–382.
11. Pan M., Tang Z., Tu J. et al. Porous chitosan microspheres containing zinc ion for enhanced thrombosis and hemostasis // Mater. Sci. Eng. C. – 2018. – V. 85. – P. 27–36.
12. Губський Ю.І. Біологічна хімія. – Київ–Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
13. Margolis J. The effect of colloidal silica on blood coagulation // Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. – 1961. – V. 39, N 3. – P. 249–258.
14. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния/ под ред. А.А. Чуйко. – Київ: Наукова думка, 2003. – 416 с.
15. Eur. Patent PCT/EP2019/052021. Hydrophilic/hydrophobic pharmaceutical composition and method of its production and use / Gerashchenko I., Chepliaka O. – Publ. 2019.
16. Turov V.V., Chehun V.F., Krupskaya T.V. et al. Effect of small addition of C₆₀ fullerenes on the hydrated properties of nanocomposites based on highly dispersed silica and DNA // Chem. Phys. Lett. – 2010. – V. 496, Issues 1–3. – P. 152–156.

17. Turov V.V., Prylutskyi Y.I., Krupskaya T.V. et al. Clustering of hydrochloric acid on the surface of C₆₀/C₇₀ fullerite and its composites with nanosilica // *Mater. Sci. Eng. Technol.* – 2016. – V. 47, Issue 2–3, Special Issue: Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology. – P. 172–179.
18. ГОСТ 14922–77 Аэросил. Технические условия. [Введен 01.01.1978]. – Москва: Изд-во стандартов ИПК, 1997. – 18 с.
19. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., Доп. 1.– Харків: ПІРЕГ, 2004. – 520 с.
20. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
21. Jaiswal A.K., Chhabra H., Narwane S. et al. Hemostatic efficacy of nanofibrous matrix in rat liver injury model // *Surg. Innov.* – 2017. – V. 24, N 1. – P. 23–28.
22. Патент UA 141355. Гемостатичний композитний матеріал / Кравченко А.А., Геращенко І.І., Туров В.В., Крупська Т.В., Гудзенко Н.В., Янчук П.І., Комаров І.В., Штанова Л.Я., Вовкун Т.В., Весельський С.П. – Опубл. 2020.
23. Білецький В.С. Мала гірнича енциклопедія. У 3-х томах. Т. 2. – Донецьк: Донбас, 2007. – 670 с.
24. Shenou P., Viau M., Tammel K., Innings F., Fitzpatrick J., Ahrne L. Effect of powder densities, particle size and shape on mixture quality of binary food powder mixtures // *Powder Technol.* – 2015. – V. 272. – P. 165–172.
25. Маркелов Д.А., Ницак О.В., Геращенко І.І. Сравнительное изучение адсорбционной активности медицинских сорбентов // *Хим.-фарм. журн.* – 2008. – Т. 42, № 7. – С. 30–33.

REFERENCES

1. Tarasyuk V.S., Matviychuk M.V., Palamar I.V., Polyarush V.V., Korolyeva N.D., Podolyan V.M. *First emergency and tactical medical aid at the pre-hospital stage.* (Kyiv: VSV “Medycyna”, 2021). [in Russian].
2. Karpuyk U.V., Kyslychenko V.S. Analysis of the assortment of drugs of hemostatic action. *Med. Clin. Chem.* 2017. **19**(2): 53. [in Ukrainian].
3. Paul W., Sharma P. Chandra. *Advances in Wound Healing Materials: Science and Skin Engineering.* In: *Smithers Rapra Technology Ltd Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, SY4 4NR.* (UK: ©Smithers Information Ltd., 2015).
4. Martynyuk O.O., Sukhodub L.B., Sukhodub L.F. Nanocomposite materials based on hydroxyapatite and sodium alginate: synthesis and characteristics. *Biophys. Visnyk.* 2015. **1**(33): 48. [in Ukrainian].
5. Holban A., Grumezescu A.M. *Materials for Biomedical Engineering: Hydrogels and Polymer-Based Scaffolds.* In: *Elsevier.* (Netherlands, UK, USA: Copyright© 2019, Elsevier Inc., 2019).
6. Zhong Yu., Hu H., Min N., Wei Yu., Li X., Li X. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review. *Ann. Transl. Med.* 2021. **9**(7): 577.
7. Sukhodub L.F., Sukhodub L.B., Litsis O., Prylutskyi Yu. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-alginate nanostructured composites for the controlled drug release. *Mater. Chem. Phys.* 2018. **217**: 228.
8. Strutynska N., Livitska O., Vovchenko L., Zhuravkov A., Prylutskyi Yu., Slobodyanik N. Novel Nanostructured Na⁺, Cu²⁺(Zn²⁺), CO₃²⁻-HAP/Alginate Composite Scaffold: Fabrication, Characterization and Mechanical Properties. *Chem. Select.* 2019. **4**(39): 11435.
9. Strutynska N., Malysenko A., Tverdokhleba N., Evstigneev M., Vovchenko L., Prylutskyi Yu., Slobodyanik N., Ritter U. Design, characterization and mechanical properties of new Na⁺, CO₃²⁻-apatite/alginate/C₆₀ fullerene hybrid biocomposites. *J. Korean Ceram. Soc.* 2021. **58**: 422.
10. Ponsen A.-Ch., Proust R., Soave S., Mercier-Nomé F., Garcin I., Combettes L, Lataillade J.-J., Uzan G. A new hemostatic agent composed of Zn²⁺-enriched Ca²⁺ alginate activates vascular endothelial cells in vitro and promotes tissue repair in vivo. *Bioact. Mater.* 2022. **18**: 368.
11. Pan M., Tang Z., Tu J., Wang Zh., Chen Q., Xiao R., Liu H. Porous chitosan microspheres containing zinc ion for enhanced thrombosis and hemostasis. *Mater. Sci. Eng. C.* 2018. **85**: 27.
12. Gubsky Yu.I. *Biological Chemistry.* (Kyiv–Ternopil: Ukrmedknyha, 2000). [in Ukrainian].
13. Margolis J. The effect of colloidal silica on blood coagulation. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1961. **39**(3): 249.
14. *Medicinal chemistry and clinical use of silicium dioxide* / Ed. A.A. Chuiko. (Kyiv: Naukova dumka, 2003). [in Russian].
15. Eur. Patent PCT/EP2019/052021. Gerashchenko I., Chepliaka O. Hydrophilic/hydrophobic pharmaceutical composition and method of its production and use. 2019.

16. Turov V.V., Chehun V.F., Krupskaya T.V., Barvinchenko V.N., Shehun S.V., Ugnivenko A.P., Prylutskyi Yu.I., Scharff P., Ritter U. Effect of small addition of C₆₀ fullerenes on the hydrated properties of nanocomposites based on highly dispersed silica and DNA. *Chem. Phys. Lett.* 2010. **496**(1–3): 152.
17. Turov V.V., Prylutskyi Y.I., Krupskaya T.V., Schur D.V., Evstigneev M.P., Kartel M.T., Ritter U. Clustering of hydrochloric acid on the surface of C₆₀/C₇₀ fullerite and its composites with nanosilica. *Mater. Sci. Eng. Technol.* 2016. **47**(2–3, Special Issue: Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology): 172.
18. Standard (GOST 14922–77). Aerosil. Technical conditions. [in Russian].
19. State Pharmacopoeia of Ukraine. SE “Scientific Expert Pharmacopoeia Center”. – 1st ed. Suppl. 1. (Kharkiv: RIREG, 2004). [in Ukrainian].
20. State Pharmacopoeia of Ukraine. SE “Scientific Expert Pharmacopoeia Center”. – 1st ed. (Kharkiv: RIREG, 2001). [in Ukrainian].
21. Jaiswal A.K., Chhabra H., Narwane S., Rege N., Bellare J.R. Hemostatic efficacy of nanofibrous matrix in rat liver injury model. *Surg. Innov.* 2017. **24**(1): 23.
22. Patent UA 141355. Kravchenko A.A., Gerashchenko I.I., Turov V.V., Krupskaya T.V., Gudzenko N.V., Yanchuk P.I., Komarov I.V., Shtanova L.Ya., Vovkun T.V., Veselskyi S.P. Hemostatic composite material. 2020. [in Ukrainian].
23. Biletsky V.S. *Small mining encyclopedia*. V. 2. (Donetsk: Donbas, 2007). [in Ukrainian].
24. Shenoy P., Viau M., Tammel K., Innings F., Fitzpatrick J., Ahrne L. Effect of powder densities, particle size and shape on mixture quality of binary food powder mixtures. *Powder Technol.* 2015. **272**: 165.
25. Markelov D.A., Nytsak O.V., Gerashchenko I.I. Comparative study of the adsorption activity of medical sorbents. *Khim.-Pharm. J.* 2008. **42** (7): 30. [in Russian].

Надійшла 03.08.2023, прийнята 27.05.2024