

УДК 541.64:532.77

## РАССАСЫВАНИЕ ОБЛАДАЮЩИХ КРОВЕОСТАНАВЛИВАЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ Са-АЛЬГИНАТНЫХ ВОЛОКОН В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Разумова Л. Л., Веретенникова А. А., Заиков Г. Е.,  
Давыдова С. Л., Наркевич Л. Д., Калинина Т. Н.,  
Илларионова Е. Л., Вольф Л. А.

Методами атомно-абсорбционной спектроскопии, рентгеновской дифракции и по потере веса исследовано поведение различных Са-альгинатных волокон в растворах, моделирующих среду организма. Обнаружен интенсивный выход в растворы Са и альгинатной массы за первые ~10 с инкубации волокон. Показано, что рассасывание волокон зависит от содержания в них химически связанныго Са и тормозится присутствием в растворах близких к физиологическим количествам Са и небольшими напряжениями волокон.

Медицина нуждается в эффективных кровеостанавливающих материалах. В качестве гемостатиков местного действия применяли марлю и тампоны на основе целлюлозы, кетгута, казеина, ПВХ, фибрина и др., а также материалы с привитыми тромбообразующими веществами [1–4]. Привлекают внимание гемостатики на основе альгиновых кислот и альгинатов (полисахаридов морских водорослей — бурых альг). Они быстро прекращают кровотечения, не раздражают окружающие ткани, не липки, хорошо впитывают влагу, не нарушают энзиматические процессы в организме, не конкурируют с медикаментозными средствами, напротив, могут быть пропитаны нужными лекарствами [5, 6]. Сыре для них доступно и легко воспроизведимо. Можно использовать для остановки кровотечений Na-альгинаты в виде пленок, нитей, марли, порошка, губки [6], 3–5%-ных водных растворов [7]. Известны и Са—Na-альгинатные препараты, например, марля «Кальгитекс», выпускаемая за рубежом, отечественный пористый материал «Альгипор» [8].

Недавно в СССР создан гемостатический нетканый материал на основе Са-альгинатных волокон [9], также Са—Na-альгинатный препарат. Са-альгинатные волокна формуют из 8–9%-ных водных растворов Na-альгинатов в осадительные ванны, содержащие  $\text{CaCl}_2$  и соляную кислоту. Такой способ формования, как следует из электронно-микроскопических исследований [10], задает гетерогенность материала: у волоконец появляется оболочка из преципитировавших Са-альгинатов. Мы провели изучение особенностей рассасывания Са-альгинатных волокон, поскольку от хода рассасывания зависят важнейшие характеристики гемостатика: скорость образования тромба и скорость вывода инородного материала из раны.

Альгиновые кислоты и альгинаты являются линейным блок-сополимером [11], мономерные единицы которого *D*-маннуроновая, *L*-гулуроновая и в меньшем количестве *D*-глюкуроновая кислоты [12]. Соотношение этих кислот и их последовательности в альгинатах варьируют в зависимости от вида и возраста альг, от места и времени их сбора [11, 13]. От содержания и чередования различных уроновых кислот в блок-сополимере зависит их способность присоединять, удерживать и обменивать те или иные ионы металлов, способность образовывать более или менее жесткие гели [14]. Предполагают, что в основе различий этих свойств альгинатов лежат отличия пространственных структур основных состав-

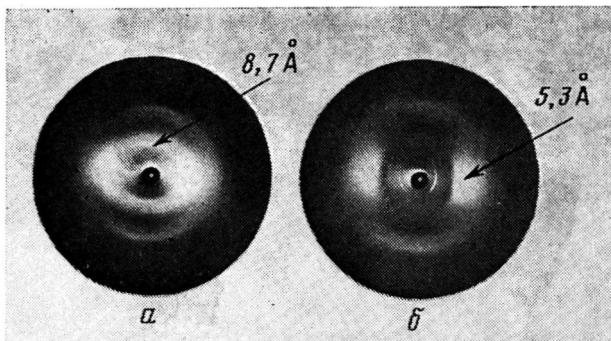


Рис. 1. Большеугловые рентгенограммы сухих Са-альгинатных волокон с содержанием химически связанных Са 7,1% (a) и 0,6% (b)

ляющих их уроновых кислот — полигулуроновой и полиманнуроновой: при большом сходстве химического строения укладка молекул в этих кислотах различна [15]. Гели альгинатов тем жестче и сохраннее, чем большие остатков гулуроновой кислоты в полимере [14]. Сроки рассасывания альгинатных материалов можно отчасти регулировать путем подбора альгинатного сырья с различным составом и распределением уроновых кислот. Возможен и другой путь. Известно, что альгиновые кислоты и Са-альгинаты пера растворимы в воде, а Na-альгинаты растворимы, и в соответствующих водных средах в Са-альгинатах идет Са — Na-обмен, сопровождающийся растворением и рассасыванием материала, переходящего в Na-форму [5]. Поэтому можно влиять на ход рассасывания альгинатных волокон, варьируя в альгинатном материале содержание альгиновых кислот, Na и Са.

Исследование проводили на образцах, изготовленных из одной и той же партии сырья Архангельского водорослевого комбината, что обеспечивало определенную идентичность их по составу и чередованию уроновых кислот. Варьировали содержание Са в волокнах. Сразу после формования альгинатные волокна содержали 8–12% Са, после кратковременной промывки в воде 6–7%. Образцы с содержанием Са менее 6% получали обработкой исходных образцов в 0,1 н. водном растворе соляной кислоты [16].

При помещении альгинатного материала в область раны он контактирует с кровью и тканевой жидкостью организма. В настоящей работе изучали рассасывание альгинатных волокон в жидких средах, в той или иной мере моделирующих жидкую среду организма: в воде, в физиологическом растворе (водный раствор 0,9%-ного NaCl), в растворе Рингера для теплокровных (водный раствор, содержащий ионы Са и Na [17]), в растворе Рингера с удвоенным содержанием CaCl<sub>2</sub>. Опыты проводили при 37°. Крепление пучков волокон при инкубации осуществляли или в двух точках (изометрическое) или в одной (свободное). Определяли потерю веса волокон (взвешиванием) и кальция (методом атомно-абсорбционной спектроскопии [18]) в зависимости от длительности инкубации волокон. Контроль за структурой волокон осуществляли на основе рентгенограмм, полученных фотометодом на плоскую пленку по стандартной методике.

На рис. 1 представлены две типичные большеугловые рентгенограммы исследованных альгинатных волокон; они соответствуют данным работ [19, 20]. Видно, что на рентгенограмме волокон с высоким содержанием Са интенсивен меридиональный рефлекс 8,7 Å, характерный для Са-гулуроната [19]. На рентгенограммах волокон, в которых содержание Са заметно понижено кислотной обработкой, рефлекс Са-гулуроната ослаблен или отсутствует и появляется характеристический рефлекс полигулуроновой кислоты 5,3 Å [19]. Это свидетельствует о превращении при кислотной обработке Са-гулуроната в полигулуроновую кислоту. Мономерные звенья гулуроновой кислоты в альгинатном блок-сополимере образуют не только линейные последовательности, как это обнаружено в работе [11], но и (по данным рентгеновской дифракции) объемные скопления, организованные в кристаллиты полигулуроновой кислоты или Са-гулуроната. Размеры кристаллитов, судя по радиальной ширине рефлексов, порядка нескольких десятков-сотни Å в направлении оси волокна

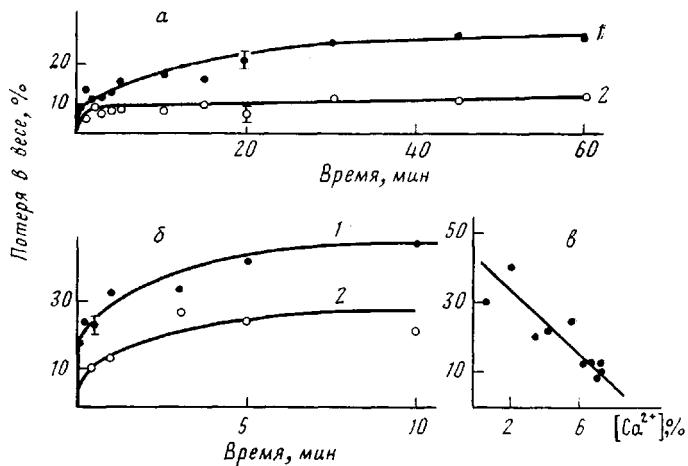


Рис. 2. Потеря веса Са-альгинатных волокон в физиологическом растворе в зависимости от длительности инкубации (а, б) и от содержания химически связанного Са после инкубации в течение 30 с (с). а, б: 1 – свободные волокна, 2 – изометрические.  $[Ca^{2+}] = 7,1$  (а) и 2,1% (б)

и заметно меньше в поперечном направлении. Кристаллическая полиманнуроновая кислота в данных образцах не обнаружена: на рентгенограммах нет ее интенсивного характеристического рефлекса 5,65 Å.

Малоугловые рентгенограммы Са-альгинатных волокон не содержат дискретных рефлексов, т. е. в альгинатном блок-сополимере нет регулярного чередования участков различной электронной плотности. Имеется экваториальный штрих, проходящий через центр рентгенограммы, указывающий на наличие в материале анизотропных неоднородностей с поперечником в десятки-сотни Å, распределенных нерегулярно. Такими неоднородностями в волокнах могут быть, например, образующиеся при их формировании микротрещины.

При промывке волокон, сформованных осаждением в водные хлоркальциевые ванны, наблюдали быструю, менее чем за 10 с, потерю  $\sim 10\%$  их веса, не возрастающую с увеличением длительности инкубации. Потеря веса такого типа связана с удалением из волокон непрочно связанных физически сорбированных веществ. Так же быстро, как и потеря веса, при промывке волокон происходит и значительная потеря Са ( $\sim 20$ – $50\%$  от его начального содержания). Очевидно, вода быстро смывает с поверхности волокон физически сорбированный в осадительных ваннах  $CaCl_2$ , и в альгинатных волокнах остается Са, удерживаемый силами электростатического взаимодействия.

При инкубации альгинатных волокон в физиологическом растворе к действию воды добавляется действие ионов Na, способных замещать в альгинатах кальций с образованием растворимых в водных средах Na-альгинатов. Рассасывание альгинатных волокон в физиологическом растворе изучено с использованием образцов, содержащих  $\sim 1$ – $7\%$  химически связанного Са (рис. 2). Оказалось, что волокна с малым содержанием Са не выдерживают сколь-нибудь длительного пребывания в физиологическом растворе. Так, волокна, содержащие  $\sim 2\%$  химически связанного Са, потеряв за 10 мин  $\sim 40\%$  веса (рис. 2, б), распадаются на отдельные фрагменты. Волокна с содержанием химически связанного Са 6–7% не фрагментировались даже после 120 ч инкубации (при потере веса 40–50%).

Обращает на себя внимание зависимость потери веса волокон даже от малого натяжения. Свободные волокна обнаруживают в физиологическом растворе большую потерю веса на всех сроках инкубации, чем изометрически закрепленные. Такую зависимость, известную для гидрофильных структур с многочисленными водородными связями, мы наблюдали при исследовании волокон из ПВС [21]. Видимо, и в случае альги-

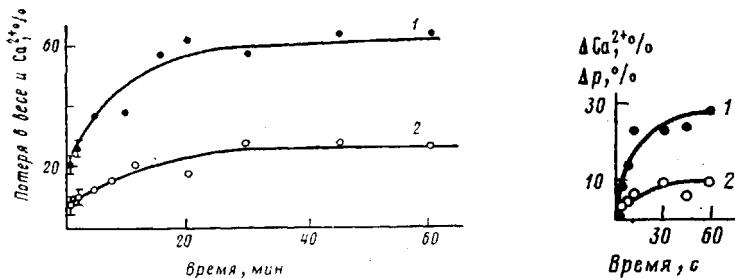


Рис. 3. Потеря Са (1) и веса (2) альгинатных волокон в физиологическом растворе в зависимости от длительности инкубации. Начальное содержание химически связанного Са в волокне 7,1%

натных волокон это явление связано с наличием водородных связей в их структуре [15].

Существенной чертой поведения альгинатных волокон в физиологическом растворе является скачкообразная потеря веса и Са в начальные 10–30 с инкубации (рис. 2, а, б и 3). Возможно, именно эта доля материала существенна для его кровеостанавливающих свойств. Величина потери веса в начальный период рассасывания зависит от содержания в альгинатных волокнах химически связанного Са (рис. 2, в). Видно, что за 30 с инкубации в физиологическом растворе потеря веса больше у волокон с меньшим содержанием Са. В последующие 5–20 мин потеря веса происходит медленнее. Для волокон с 6–7% химически связанного Са она затем еще более замедляется, определенная часть материала практически стабильна к действию физиологического раствора. В живом организме к удалению этих не рассосавшихся в небольшие сроки остатков альгинатных волокон подключается макрофагальный механизм [22].

Некоторые сведения о том, какая составляющая альгинатных волокон наиболее устойчива к действию физиологического раствора, дает сопоставление рентгенограмм и данных о содержании Са в остатках после инкубации. Из рис. 3 следует, что, хотя кривая потери Са обнаруживает качественно те же особенности, что и кривая потери веса, количественное соотношение процессов приводит к относительному снижению содержания Са в остатках альгинатных волокон после инкубации. По данным рентгеновской дифракции, с увеличением длительности инкубации волокон на рентгенограммах ослабевает меридиональный рефлекс 8,7 Å. Это означает, что в остатках волокон после инкубации существенно увеличивается доля не растворимых в физиологическом растворе альгиновых кислот, они сохраняются в волокне.

В растворе Рингера – в среде, более близкой по ионному составу к тканевой жидкости, чем физиологический раствор, рассасывание альгинатных волокон замедлено, и еще более замедлено в случае использования растворов с удвоенным содержанием  $\text{CaCl}_2$  (таблица). Видимо, это замедление связано с присутствием в растворе Рингера ионов Са, вызывающих торможение Са – Na-обмена в альгинатах. Влияние небольших (близких к физиологическим) количеств ионов Са на кровеостанавливающую способность Na-альгинатных препаратов известно [6, 7]. Наши дан-

#### Потеря веса ( $\pm 5\%$ ) Са-альгинатными волокнами в водных растворах, различающихся содержанием Са, при продолжительности инкубации 2 ч

Содержание Са, %	Потеря веса, %		
	физиологический раствор	раствор Рингера	раствор Рингера с удвоенным содержанием $\text{CaCl}_2$
4,2	43	34	25
6,6	40	25	14
7,1	32	22	12
7,3	34	20	17

ные показывают, что и рассасывание альгинатных волокон заметно меняется при малых, всегда возможных в среде живого организма, колебаниях содержания ионов Са.

Исследование рассасывания Са-альгинатных волокон в физиологическом растворе или в растворе Рингера дает две важные характеристики этого гемостатического материала: величину, существенную для его кровоостанавливающих свойств — выброса альгинатной массы и кальция в первые 10–30 с контакта с Na-содержащим раствором, и оценочную величину той массы, которая остается в организме и подлежит удалению не путем рассасывания, а по макрофагальному механизму. Величину начального выброса альгинатной массы и Са оказалось возможным изменять обработкой, снижающей содержание Са в волокнах. Для величины массы волокон, стабильной к действию физиологического раствора, существенно соотношение в них альгинатов и нерастворимых альгиновых кислот.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Frantz V. K.* // *Surg. Clin. N. America*. 1945. V. 25. № 2. P. 338.
2. *Васильченко Е. А., Измайлов И. К., Пененжик М. А., Вирник А. Д., Гомозова Р. П., Писманник К. Д.* // *Хим.-Фарм. журн.* 1982. Т. 16. № 1. С. 98.
3. *Вирник А. Д., Пененжик М. А., Роговин З. А., Даурова Т. Т., Ходяков И. А.* // *Текстил. пром-сть*. 1969. № 3. С. 67.
4. *Ясницкий Б. Г., Дольберг Е. Б., Оридорога В. А.* А. с. 370946 СССР // Б. И. 1973. № 12. С. 13.
5. *Blaine M. G.* // *Ann. Surg.* 1947. V. 125. № 1. P. 102.
6. *Орлов А. Г.* *Хирургия*. 1955. № 9. С. 77.
7. *Daygo K., Yamada Ch., Wada Y., Yamaji M., Okuda S., Okada M., Miyazato T.* // *J. Pharmac. Soc. Japan*. 1981. V. 101. № 5. P. 458.
8. *Шенкер М. Б., Якубович В. С., Раскина Л. П.* Новые лекарственные средства: Экспресс-информация. 1985. № 2. С. 2.
9. *Ясницкий Б. Г., Безуглая Л. П., Дольберг Е. Б., Фурманов Ю. А., Сильченко В. П., Дьячук И. С., Илларионова Е. Л., Калинина Т. Н., Вольф Л. А.* // Тез. докл. IV Всесоюз. науч. симпоз. «Синтетические полимеры медицинского назначения». Дзержинск, 1979. С. 195.
10. *Blakey P. R., El-Alfy M. O.* // *J. Text. Inst.* 1982. V. 73. № 3. P. 145.
11. *Haug A., Larson B., Smidsrod O.* // *Acta chem. scand.* 1966. V. 20. № 1. P. 183.
12. *Fischer F. G., Dorfel H.* // *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 1955. B. 302. H. 4–6. S. 186.
13. *Haug A., Larson B., Smidsrod O.* // *Carbohydr. Res.* 1974. V. 32. № 2. P. 217.
14. *Smidsrod O., Haug A.* // *Acta chem. scand.* 1972. V. 26. № 1. P. 79.
15. *Atkins E. D. T., Mackie W., Parker K. D., Smolko E. E.* // *Polymer Letters*. 1971. V. 9. № 4. P. 311.
16. *Мак-Байн-Миллер Дж. Х., Калдвелл Р.* Пат. 1231506 Великобритания // РЖХим. 1971. № 24. 24Ф2257П.
17. Практикум по общей биофизике/Под ред. Тарусова Б. Н. Вып. III–IV. М., 1961. С. 260.
18. *Давыдова С. Л., Доманина О. Н.* // Исследование металлоксодержащих органических соединений методом атомно-абсорбционной спектроскопии. М., 1982. С. 27.
19. *Frey E., Preston R. D.* // *Nature*. 1962. V. 196. № 4850. P. 130.
20. *Atkins E. D. T., Mackie W., Parker K. D., Smolko E. E.* // *Nature*. 1970. V. 225. № 5233. P. 626.
21. *Разумова Л. Л., Веретенникова А. А., Заиков Г. Е., Вольф Л. А.* // Высокомолек. соед. А. 1983. Т. 25. № 10. С. 2085.
22. *Фурманов Ю. А., Савицкая И. М., Сильченко В. П., Безуглая Л. П., Дольберг Е. Б., Илларионова Е. Л., Калинина Т. Н., Муковский Л. А.* // Тез. докл. VI Всесоюз. науч. симпоз. «Синтетические полимеры медицинского назначения». Алма-Ата, 1983. С. 167.

Институт химической физики  
АН СССР

Поступила в редакцию  
9.VIII.1985.

Институт нефтехимического синтеза  
им. А. В. Топчиева АН СССР

Институт текстильной и легкой промышленности  
им. С. М. Кирова

**DISPERSAL IN AQUEOUS MEDIUM OF CALCIUM-ALGINATE FIBERS  
HAVING THE BLEEDING-STOPPING PROPERTIES**

**Razumova L. L., Veretennikova A. A., Zaikov G. Ye., Davydova S. L.,  
Narkevich L. D., Kalinina T. N., Illarionova Ye. L., Vol'f L. A.**

**S u m m a r y**

The behaviour of various Ca-alginate fibers in solutions simulating the organism medium has been studied by atom-absorption spectroscopy, X-ray analysis and weight loss methods. The intensive evolution of Ca and alginate mass into the medium during the first 10 s of fibers incubation was observed being important for the bleeding-stopping action. Dispersal of fibers was shown to depend on the content of chemically bound Ca and to be retarded by the presence in solutions of amounts of Ca close to physiological ones and small tensions of fibers.