

Иммобилизация хитозана на пленки полиэтилентерефталата, активированные в разряде постоянного тока при пониженном давлении

**Т.С. Демина, М.С. Пискарев, **О.А. Романова, А.Б. Гильман, Т.А. Аكوпова
Москва, Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН,
ул. Профсоюзная, д. 70*

**Москва, Институт регенеративной медицины, Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет), ул. Трубецкая, д. 8*

***Москва, НИЦ «Курчатовский институт», пл. Академика Курчатова, д. 1
E-mail: detans@gmail.com*

Использование плазмы пониженного давления для обработки полимерных материалов позволяет модифицировать химическую структуру поверхности, что перспективно для последующей иммобилизации на них биоактивных полимеров. В работе исследовали влияние обработки в разряде постоянного тока пониженного давления пленок полиэтилентерефталата на эффективность последующей иммобилизации на них хитозана, продукта деацетилирования природного полисахаридахитина, флуоресцентной микроскопии и измерения контактных углов смачивания.

***Immobilization of chitosan onto poly(ethylene terephthalate) films activated by low-pressure DC discharge. T.S. Demina, M.S. Piskarev, O.A. Romanova, A.B. Gilman, T.A. Akopova.** Application of low-pressure plasma techniques for polymeric materials treatment allows one to modify chemical structure of the surfaces, which is perspective for future immobilization of bioactive components. An effect of low-pressure DC-discharge treatment of poly(ethylene terephthalate) films on subsequent immobilization of chitosan, i.e. product of deacetylation of natural polysaccharide chitin was evaluated using measurements of contact angles of wettability and fluorescence microscopy.*

Одной из ключевых проблем регенеративной медицины является создание биосовместимых материалов для функционирования в тканях и органах. Учитывая широкий набор требований, которые к ним предъявляются, в том числе нежелательность использования дополнительных реагентов при их формовании и модифицировании, применение физических подходов является особенно перспективным. Одним из наиболее востребованных физических инструментов для модифицирования поверхности биоматериалов является обработка в низкотемпературной плазме пониженного давления [1,2]. Благодаря возможности варьировать параметры модифицирования (тип разряда, природа и давление газа, время обработки и т.д.) модифицирование в плазме позволяет регулировать химическую структуры, морфологию и свойства поверхностного слоя в широком диапазоне [2]. Главной областью применения плазмохимической модификации полимеров является гидрофилизация поверхности синтетических гидрофобных материалов на основе полилактида, полигидроксибутирата, полиэтилентерефталата и т.п. [2,3] Для достижения высокого результата возможно целенаправленное регулирование свойств поверхностного слоя полимеров для придания ему специфических функциональных групп, что можно осуществить или оптимизацией условий плазмохимического модифицирования, или используя воздействие плазмы для активации поверхности перед последующим нанесением целевого биоактивного компонента. Иммобилизация на функционализированную в плазме поверхность фрагментов природных полисахаридов позволяет не только придать длительную гидрофильность поверхности, но и обеспечить биологическую активность [4,5]. Например, хитозан – содержит в своей структуре первичные аминогруппы, которые являются удобными сайтами для адгезии различных типов клеток [6].

Целью работы является исследование влияния воздействия плазмы разряда постоянного тока при пониженном давлении на пленки полиэтилентерефталата для увеличения эффективности последующей иммобилизации хитозана на их поверхности.

В работе использовали пленки полиэтилентерефталата (ПЭТФ) (промышленная пленка марки PETLAIN BT 1010 E, «Superfilm», Турция, толщина 40 мкм). Активацию поверхности пленки проводили в разряде постоянного тока пониженного давления в течение 60 сек при токе разряда 50 мА и давлении остаточного воздуха ~20 Па [7]. Обработку пленок ПЭТФ осуществляли на катоде или на аноде. На пленку ПЭТФ иммобилизовали хитозан (молекулярная масса 60 кДа, степень ацилирования 0.1) по следующей методике: активированную подложку инкубировали в 1 мас.% растворе хитозана в 2% CH_3COOH в течение 2-х часов при 37°C, потом промывали деионизованной водой в течение 2-х часов при постоянной смене воды и сушили пленки в беспылевом шкафу.

Ранее методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии было показано, что поверхность пленок ПЭТФ, обработанных в разряде постоянного тока на аноде и катоде, была обогащена полярными кислородсодержащими группами ($-\text{OH}$, $-\text{OCO}$ и $-\text{OOC}$), которые могут взаимодействовать с аминогруппами хитозана, заряженными положительно в протонированном состоянии. Для подтверждения присутствия хитозана на поверхности обработанных в плазме пленок использовали метод флуоресцентной микроскопии с предварительным мечением пленок флуоресцеин изотиоцианатом (ФИТЦ). Для этого пленки ПЭТФ с иммобилизованным хитозаном инкубировали в 1 мл боратного буфера, содержащего 10 мкл 0.2 мас.% раствора ФИТЦ в диметилсульфоксиде в течение 2-х часов. Затем пленки тщательно отмывали дистиллированной водой и исследовали на флуоресцентном микроскопе. ФИТЦ способен к селективному связыванию с первичными аминогруппами и поэтому может служить в качестве индикатора присутствия хитозана на поверхности. Все пленки, предварительно обработанные в плазме перед иммобилизацией хитозана, показали эмиссию от ФИТЦ.

Основным параметром эффективности иммобилизации служила смачиваемость поверхности и – измерения краевого угла смачивания по деионизованной воде и глицерину. Неактивированная пленка ПЭТФ даже после инкубирования в растворе хитозана обладает гидрофобной поверхностью. Угол смачивания в этом случае был равен смачиваемости нативной пленки ПЭТФ, что указывает на отсутствие сколь-либо существенной адсорбции хитозана. Предварительная активация пленки ПЭТФ в плазме на аноде или катоде с последующим инкубированием в растворе хитозана приводит к значительному (~ 30%) уменьшению угла смачивания по воде, которое сопровождается увеличением полной поверхностной энергии. При этом полярный компонент поверхностной энергии увеличивается в 3.1-3.6 раз, а дисперсионный снижается в 1.7-2.2 раза.

Предварительные *invitro* исследования роста фибробластов на исходных пленках ПЭТФ, а также после нанесения хитозана без предварительной обработки в плазме и с плазмохимическим модифицированием показали, что адгезия и рост клеток после иммобилизации хитозана на активированные в плазме пленки выше, чем на исходных пленках даже после нанесения на них хитозана.

Таким образом, предварительная активация пленок полиэтилентерефталата в разряде постоянного тока позволяет эффективно иммобилизовать хитозан на их поверхности, что обеспечивает повышение не только их гидрофильности, но и биосовместимости.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-32-00901.

Литература

1. N. De Geyter, R. Morent Non-thermal plasma surface modification of biodegradable polymers. *Biomedical Science // Engineering and Technology*. 2012. P. 225–246;
2. А.Б. Гильман, Т.С. Демина, П.С. Тимашев Плазмохимическое модифицирование поверхности для регулирования биосовместимости полимерных материалов. *Методики и установки // Перспективные материалы*. 2019. №1. С. 5-19;
3. Т.С. Демина, А.Б. Гильман, А.Н. Зеленецкий Применение методов химии высоких энергий для модифицирования структуры и свойств полилактида // *Химия высоких энергий*. 2017. Т. 51. №4. С. 317-328;
4. V. Kudryavtseva, K. Stankevich, A. Gudima, E. Kibler, Y. Zhukov, E. Bolbasov, A. Malashicheva, M. Zhuravlev, V. Riabov, T. Liu, V. Filimonov, G. Remnev, H. Klüter, J.

- Kzhyshkowska, S. Tverdokhlebov Atmospheric pressure plasma assisted immobilization of hyaluronic acid on tissue engineering PLA-based scaffolds and its effect on primary human macrophages // *Materials and Design*. 2017. V. 127. P. 261-271;
5. N. Behary, A. Perwuelz, C. Campagne, D. Lecouturier, P. Dhulster, A.S. Mamede Adsorption of surfactin produced from *Bacillus subtilis* using nonwoven PET (polyethylene terephthalate) fibrous membranes functionalized with chitosan // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2012. V. 90. P. 137–143;
6. Croisier F., Jerome Ch. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering // *European Polymer Journal*. 2013. V. 49. P. 780-792;
7. М.С. Пискарев, А.Б. Гильман, А.К. Гатин, А.И. Гайдар, Т.С. Куркин, А.А. Кузнецов Влияние модифицирования в разряде постоянного тока на свойства поверхности, химическую структуру и морфологию пленок полиэтилентерефталата // *Химия высоких энергий*. 2019. Т. 53. № 1. С. 64–70.

Влияние модифицирования в плазме на адгезионные свойства полимерных материалов

*М.С. Пискарев, *А.В. Зиновьев, А.Б. Гильман, А.С. Кечекьян, А.А. Кузнецов*
Москва, Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова
Российской академии наук, ул. Профсоюзная, 70, mikhailpiskarev@gmail.com,
plasma@ispm.ru

** Москва, РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,*
Проспект Вернадского, 86, zinovev.97@inbox.ru

Изучено изменение адгезионных свойств пленок политетрафторэтилена, полипиромеллитимида и полиэтилентерефталата, модифицированных в разряде постоянного тока. Проведено измерение силы отслаивания методом Т-теста по ASTM 1876-01 с использованием адгезивов различной химической природы. Показано, что воздействие низкотемпературной плазмы является эффективным методом улучшения адгезионных характеристик полимерных материалов.

The effect of plasma modification on the adhesive properties of polymer materials. M.S.Piskarev, A.V.Zinoviev, A.B.Gilman, A.S.Kechek'yan, A.A.Kuznetsov. The change in the adhesion properties of polytetrafluoroethylene, polypyromellitimide and poly(ethylene terephthalate) films modified by DC discharge was studied. The peel strength was measured by T-test method according to ASTM 1876-01 using adhesives of various chemical nature. It was shown that the treatment by the low-temperature plasma is an effective method for improving the adhesive characteristics of polymer materials.

Нет ни одной отрасли промышленности и народного хозяйства, где бы не использовали полимерные материалы различной химической природы. Во многих случаях необходимым для применения свойством является хорошая адгезия полимеров к поверхности с помощью клеев и в составе ламинированных материалов. Однако, часто поверхность полимеров является гидрофобной, а ее адгезионные характеристики низкими. В настоящее время одним из наиболее технологичных и экологически чистых методов, позволяющих существенно улучшить контактные и адгезионные свойства полимеров за счет изменения химической структуры и морфологии поверхности, не затрагивая объемных характеристик, является воздействие низкотемпературной плазмы [1–3].

Данная работа посвящена изучению адгезионных свойств пленок полимеров, которые находят широкое применение в различных областях промышленности, в том числе в