

УДК 537.528
EDN: SHDRAV

PACS: 52.80. Wg, 82.33.Xj

Плазмохимическая обработка хитозана и поливинилового спирта для получения нанокompозитов, обладающих ранозаживляющими свойствами

В. А. Титов, Н. А. Сироткин, И. К. Наумова, М. А. Хижкина,
Т. Г. Кичеева, А. В. Агафонов

С использованием разряда между электродами из серебра, цинка или меди, погруженными в водную суспензию хитозана и поливинилового спирта, синтезированы полимерные композиты, содержащие наночастицы серебра, оксида цинка (ZnO) или оксида меди (Cu₂O). Разряд возбуждали между стержнями диаметром 1 мм при межэлектродном расстоянии 1,5 мм и среднем токе разряда 0,25 А в ячейке с объемом жидкости 100 мл. Скорость эрозии электродов (0,012–0,014 г/мин) определяли их взвешиванием до и после эксперимента. Полученные композиции исследованы методами электронной спектроскопии, рентгеновской дифракции и сканирующей электронной микроскопии. Испытания на лабораторных мышах показали, что полученные нанокompозиты ускоряют заживление ран: полное заживление с применением композитов с наночастицами Ag или ZnO наблюдалось на 7-е – 10-е сутки, в то время как в контрольной группе – лишь на 13-е сутки.

Ключевые слова: плазма, подводный разряд, хитозан, модифицирование, наночастицы, ранозаживляющие свойства.

DOI: 10.51368/1996-0948-2024-5-19-25

Введение

Долго заживающие (хронические) раны, от которых ежегодно в мире страдают более 40 миллионов пациентов, представляют собой значительную медицинскую проблему [1]. Для их лечения необходимы ранозаживляющие материалы, эффективно предотвращающие вторичное инфицирование и ускоряющие регенерацию тканей. В ряде работ сообщается

об успешном использовании для этих целей природных полимеров, которые обладают бактериостатическим действием, служат барьером для патогенных микроорганизмов и способствуют восстановлению тканей [1–4]. Одним из таких биополимеров является хитозан, способный усиливать обезболивающее и гемостатическое действие медицинских препаратов, взаимодействовать с клеточными мембранами, увеличивать активность нейтро-

Титов Валерий Александрович¹, гл.н.с., д.ф.-м.н.

E-mail: titov25@gmail.com

Сироткин Николай Александрович¹, н.с., к.х.н.

Наумова Ирина Константиновна², доцент, к.х.н.

E-mail: irinauma@mail.ru

Хижкина Мария Анатольевна³, аспирант.

Кичеева Татьяна Григорьевна³, доцент, к.ветеринар.н.

Агафонов Александр Викторович¹, зав. отделом, д.х.н.

¹ Институт химии растворов им. Г. А. Крестова

Российской академии наук.

Россия, 153045, г. Иваново, ул. Академическая, 1.

² Ивановский государственный университет.

Россия, 153025, г. Иваново, ул. Ермака, 39.

³ Верхневолжский государственный

агробиотехнологический университет

Россия, 153000, г. Иваново, ул. Советская, 45.

Статья поступила в редакцию 26.06.2024

Принята к публикации 17.07.2024

Шифр научной специальности: 1.3.9

© Титов В. А., Сироткин Н. А., Наумова И. К.,
Хижкина М. А., Кичеева Т. Г., Агафонов А. В., 2024

филов, макрофагов и выработку внеклеточного матрикса, что делает его привлекательным для антибактериальной терапии [5]. Свойства хитозана, включая его растворимость в воде, прочность и эластичность, пленкообразующую способность, а также биологическую активность, можно регулировать за счет сшивания с другими полимерами и инкапсуляции наночастиц (НЧ) [6]. Показано, что полимерные композиты на основе хитозана и/или поливинилового спирта (ПВС) с введенными в них наночастицами металлов или оксидов эффективны при заживлении ран различного происхождения [3, 4, 7–12]. Так, в работе [8] найдено, что композиции «хитозан – ПВС – оксид графена – НЧ CuO» способствуют росту клеток и предотвращают пролиферацию патогенных бактерий. Авторы работ [9–11] успешно испытали в качестве ранозаживляющих материалов композиционные материалы на основе поливинилового спирта и хитозана с включением НЧ ZnO и показали их антибактериальную активность. Установлено, что внедрение НЧ ZnO повышает паропроницаемость и влияет на характеристики набухания материала [10]. Полученные нанокompозиты обладают антибактериальными и антиоксидантными свойствами, ускоряют процесс заживления ран и не уступают стандартным полиспориновым мазям [12].

Химические методы получения полимерных композитов с наночастицами, как правило, основаны на многостадийных процессах и требуют использования дорогостоящих реактивов. Вместе с тем, недавно было показано, что подобные композиционные материалы могут быть получены с использованием газовых разрядов, возбуждаемых между электродами, погруженными в жидкость (раствор высокомолекулярного соединения). Таким методом были получены композиции на основе полимолочной кислоты с включением наночастиц серебра [13], поливинилового спирта с наночастицами оксидов меди и цинка [14], вязкие салфетки с наночастицами оксидов цинка и титана, обладающие антимикробным действием [15]. Цель данной работы состояла в плазмохимическом получении композиций на основе хитозана и поливинилового спирта с введением наночастиц серебра, оксидов меди или цинка и в оценке их ранозаживляющих свойств.

Методики экспериментов

Схема установки показана на рисунке 1. Разряд возбуждали от источника постоянного напряжения БП-0,25-2 (ООО «ТД АРС ТЕРМ», Россия) между металлическими электродами, погруженными в водную суспензию, содержащую 1 г хитозана и 1 г поливинилового спирта. Electroдами служили стержни диаметром 1,0 мм из серебра, меди или цинка чистотой 99,99 % (Tangda Co., Ltd., Китай), которые были помещены в керамический изолятор с двумя параллельными каналами. Межэлектродное расстояние составляло 1,5 мм. Осциллограммы напряжения и тока записывали с помощью многоканального цифрового осциллографа Hantek-4104B (Hantek, Китай). Средний ток разряда составлял 0,25 А, длительность обработки в разных экспериментах была от 5 до 10 мин.

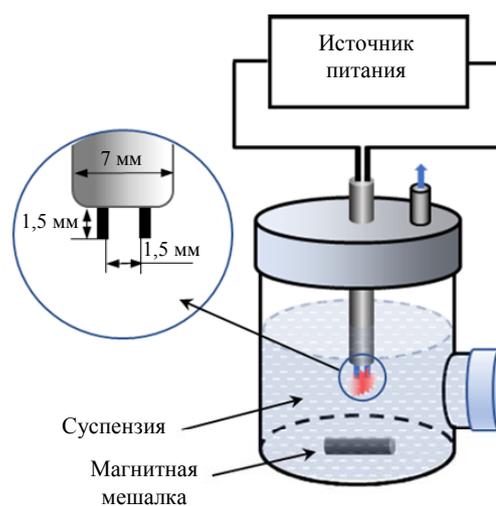


Рис. 1. Схема установки

Для приготовления суспензий использовали хитозан со средней молекулярной массой 192 кДа и степенью деацетилирования 82 % производства ЗАО «Биопрогресс» (Россия) и гранулы поливинилового спирта марки 16/1, с молекулярной массой 2×10^5 Да (ООО «Химреактив», Россия). ПВС предварительно растворяли в дистиллированной воде при постоянном перемешивании, после чего добавляли порошок хитозана, который диспергировали в жидкости с использованием ультразвуковой ванны. Приготовленную суспензию (100 мл) помещали в разрядную ячейку и производили ее обработку плазмой при перемешивании суспензии магнитной мешалкой.

Электроды взвешивали до и после зажигания разряда на аналитических весах. По изменению массы находили скорость эрозии электродов и оценивали концентрации наночастиц, инкапсулированных в полимерную матрицу. Подробнее установка и методики экспериментов описаны в [15, 16].

Электронные спектры поглощения суспензий регистрировали на спектрофотометре СФ-56 (ООО «Спектр», Россия) в диапазоне $\lambda = 190\text{--}600$ нм, используя кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм. В отдельных экспериментах суспензии после плазменной обработки выливали в стеклянные чашки Петри диаметром 10 см и испаряли растворитель (воду) в термошкафу при температуре 40 °С. Фазовый состав композитов анализировали методом рентгеновской дифракции (рентгеновский дифрактометр D2 Phaser, Bruker, источник излучения – Cu K α , $\lambda = 1,5418$ Å). Дифрактограммы регистрировали в диапазоне углов 2 θ от 5° до 60° с шагом 0,02°. Образцы для анализа массой 0,1 г были приготовлены измельчением отлитых пленок. Интерпретацию дифрактограмм проводили с использованием открытой кристаллографической базы данных.

Суспензиями с наночастицами пропитывали стерильные медицинские салфетки (ООО «Нью-Фарм», Россия) размером 10×10 см с последующей сушкой при 30 °С. В дальнейшем эти салфетки использовали в экспериментах по заживлению дермальных ран у лабораторных мышей. Эти испытания выполнены в Институте ветеринарной медицины и биоинженерии Верхневолжского государственного агробиотехнологического университета.

Результаты и их обсуждение

Разряд между электродами, погруженными в суспензию, горел в виде квазипериодических импульсов с частотой следования $\sim 20 \pm 5$ с $^{-1}$ при длительности импульсов 300–350 мкс. Разрядам предшествовало образование пузырьков водорода и кислорода за счет электролиза. Пробои в пузырьках приводили к резкому росту тока, нагреву газа и электродов,

а также к интенсивному локальному испарению воды. В спектрах излучения разрядов присутствовали линии кислорода, бальмеровской серии водорода, полосы ОН и линии излучения атомов металлов, из которых сделаны электроды [17]. Рассеиваемая мощность, найденная по осциллограммам тока и напряжения, в разрядах с разными электродами составляла 25–30 Вт, скорость эрозии электродов из серебра, меди и цинка – $1,39 \times 10^{-2}$, $1,19 \times 10^{-2}$ и $1,26 \times 10^{-2}$ г/мин соответственно. Хитозан полностью растворялся в воде в процессе горения разряда.

Электронные спектры поглощения суспензии после обработки разрядом с электродами из серебра показаны на рисунке 2. Рост поглощения в УФ-области обусловлен перекрывающимися полосами с максимумами при 260 нм и 295 нм. Происхождение этих полос связано с окислительной деструкцией хитозана, которая сопровождается образованием карбонильных групп. Полоса при 295 нм обусловлена электронными переходами в С=О-группах, образующихся на концах цепей хитозана в результате разрыва гликозидных связей, вторая полоса с $\lambda_{\max} = 260$ нм связана с карбонильными группами – продуктами окисления пиранозного цикла [18, 19].

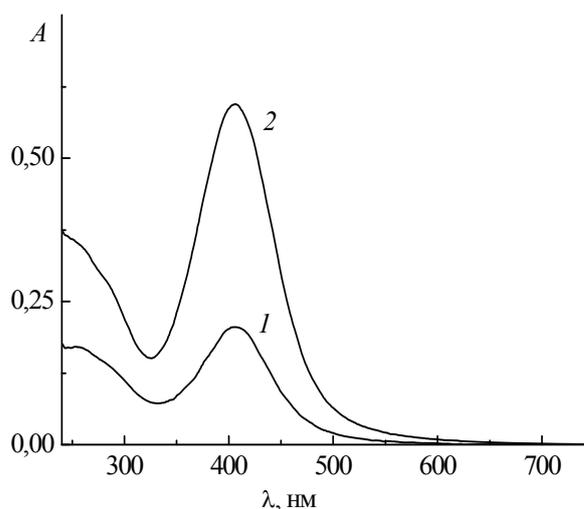


Рис. 2. Электронные спектры поглощения суспензии после плазменной обработки в течение 5 (1) и 10 мин (2). Разряд между электродами из серебра

Полосы с $\lambda_{\max} = 405$ нм вызваны поверхностным плазмонным резонансом в наночас-

тицах серебра. Плазмонному резонансу в наночастицах Cu_2O и ZnO отвечают полосы поглощения с максимумами около 386 нм и 362 нм соответственно [20, 21]. Однако из-за более низкой интенсивности и перекрытия с полосами поглощения $\text{C}=\text{O}$ -групп они не проявляются в спектрах столь отчетливо, как полоса для наночастиц серебра.

Встраивание наночастиц в полимерные композиции подтверждается спектрами рентгеновской дифракции (рис. 3). На рентгенограмме образца с наночастицами Ag присутствуют линии брэгговского отражения при углах $2\theta = 27,81$ и $38,12^\circ$, которые отвечают плоскостям (210) и (111) в гранцентрированной кубической структуре серебра (JCPDS 04-0783) [22]. Характеристические дифракционные линии при $2\theta = 31,81^\circ$, $34,45^\circ$, $36,29^\circ$ на рентгенограмме образца с наночастицами оксида цинка соответствуют плоскостям (100), (002), (101) ZnO (JCPDS 89-1397) [23]. Рентгенограмма образца, полученного при разряде с электродами из меди ($2\theta = 29,60^\circ$, $36,52^\circ$, $42,44^\circ$), указывает на формирование оксида меди (I) Cu_2O (JCPDS 89-5899) [24].

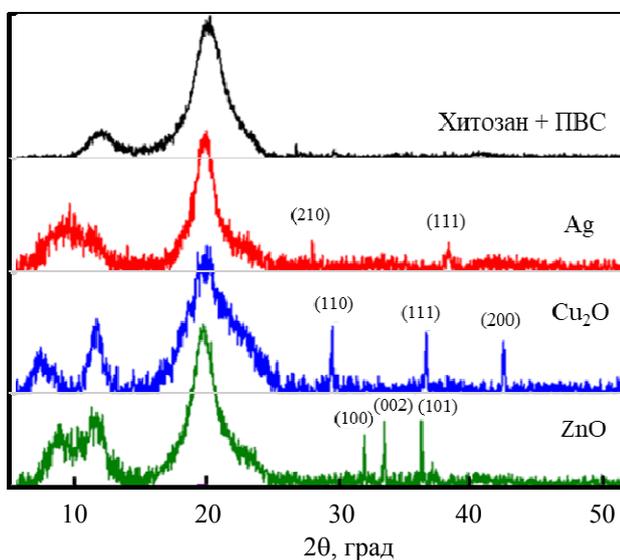


Рис. 3. Рентгенограммы композиционных материалов

На рисунке 4 показаны изображения поверхности волокон медицинских салфеток, пропитанных композициями с наночастицами Cu_2O и ZnO . Изображения получены на сканирующем электронном микроскопе Quattro S (Thermo Fisher Scientific, Чехия). На поверх-

ности отчетливо видны наночастицы диаметром около 50–60 нм.

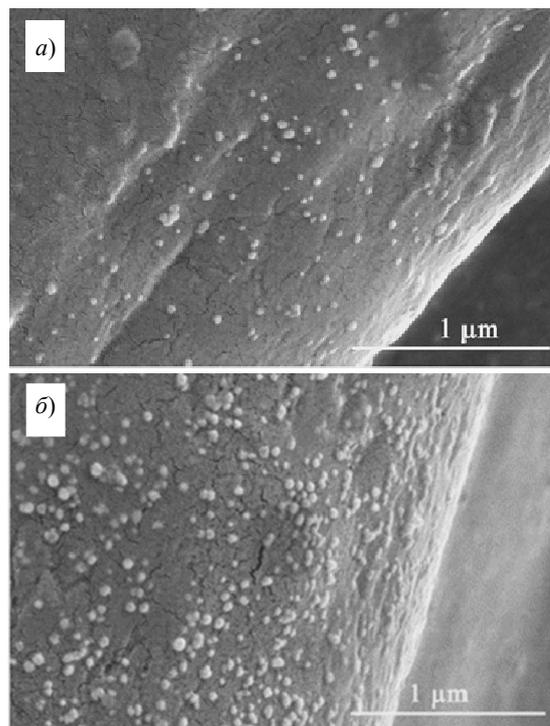


Рис. 4. Изображения поверхности волокон: а) – волокно, покрытое композитом с наночастицами оксида меди; б) – волокно, покрытое композитом с наночастицами оксида цинка

Эксперименты по заживлению ран выполнены на 20 беспородных белых мышам-самцах массой 25–30 г в возрасте 6 месяцев, которые были разделены на 4 исследовательские группы. Мышей содержали в индивидуальных клетках в стандартных условиях вивария. В процессе исследования оценивали время заживления ран и формирования рубцов, а также анализировали гистологические препараты. Для формирования ран в межлопаточной области сбрасывали шерсть и с соблюдением асептики хирургическим скальпелем производили рассечение эпидермиса, дермы и подкожной клетчатки до мышц. Длина раны составляла 5 мм. Раны закрывали медицинскими повязками, пропитанными соответствующими композиционными составами, и ежедневно обрабатывали 0,9%-ным физиологическим раствором. Состояние ран оценивали визуально и фотографировали. В контрольной группе использовали стерильные салфетки без пропитки композициями. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Результаты заживления ран при использовании композиций с наночастицами

| Испытуемая группа | Условия заживления раны | Концентрация наночастиц, масс. % | Начало эпителизации | Полное заживление |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------|-------------------|
| Контроль | Стерильная салфетка | – | 7 сутки | 13 сутки |
| Группа 1 | Образец 1 (НЧ Ag) | 3,48 | 5 сутки | 7–10 сутки |
| Группа 2 | Образец 2 (НЧ Cu ₂ O) | 2,99 | 6 сутки | 13 сутки |
| Группа 3 | Образец 3 (НЧ ZnO) | 3,15 | 5 сутки | 7–10 сутки |

Динамика заживления была следующей. В ранах мышей всех опытных групп на второй день эксперимента появились первичные коричневатые струнья толщиной до 1 мм. На пятые сутки после нанесения раны в первой и третьей группах (при использовании композиций с наночастицами Ag и ZnO соответственно) образовался светлый ободок краевой эпителизации. На седьмые сутки раневые дефекты в группах 1 и 3 закрылись практически полностью, а к десятому дню раневая поверхность была гладкой и бледно-розовой. В контрольной группе особой эпителизацию раны (ободок краевой эпителизации) наблюдали лишь на седьмые сутки, а в группе 2 – на шестые сутки заживления. Полное заживление раны с формированием гладкой розовой поверхности кожи в этих группах наблюдалось лишь на 13-е сутки. Указанные сроки эпителизации и развития соединительной ткани подтверждены результатами гистологических исследований. Необходимо отметить, что образцы с наночастицами оксида меди (Cu₂O) не показали высокой эффективности в заживлении ран.

Заключение

Таким образом, использование разряда между электродами из серебра или цинка, погруженными в водную суспензию хитозан – ПВС, позволяет получить композиционные материалы, содержащие наночастицы серебра или оксида цинка с концентрацией около 3 масс. %. Такой процесс не требует использования дополнительных реактивов и отличается относительной простотой. Медицинские салфетки, пропитанные композиционным составом, ускоряют заживление дермальных ран. Аналогичные образцы с наночастицами

оксида меди (Cu₂O) обладают существенно меньшей эффективностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Laurano R., Boffito M., Ciardelli G., Chiono V. / Eng. Regen. 2022. Vol. 3. P. 182.
2. Deng C.-M., He L.-Z., Zhao M., Yang D., Liu Y. / Carbohydr. Polym. 2007. Vol. 69. P. 583.
3. Almaieli L. M. A., Khalaf M. M., Gouda M., Elmushyakh A., Abou Taleb M. F., Abd El-Lateef H. M. / Polymers. 2022. Vol. 15. P. 211.
4. Mohandas A., Deepthi S., Biswas R., Jayakumar R. / Bioact. Mater. 2018. Vol. 3. P. 267.
5. Rinaudo M. / Prog. Polym. Sci. 2006. Vol. 31. P. 603.
6. Perelshtein I., Ruderman E., Perkas N., Tzanov T., Beddow J., Joyce E., Mason T. J., Blanes M., Mollá K., Patlolla A. et al. / J. Mater. Chem. B. 2013. Vol. 1. P. 1968.
7. Loo H. L., Goh B. H., Lee L.-H., Chuah L. H. / Asian. J. Pharm. Sci. 2022. Vol. 17. P. 299.
8. Venkataprasanna K. S., Prakash J., Vignesh S., Bharath G., Venkatesan M., Banat F., Sahabudeen S., Ramachandran S., Devanand Venkatasubbu G. / Int. J. Biol. Macromol. 2020. Vol. 143. P. 744.
9. Baghaie S., Khorasani M. T., Zarrabi A., Moshtaghian J. / J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2017. Vol. 28. P. 2220.
10. Khorasani M. T., Joorabloo A., Adeli H., Milan P. B., Amoupour M. / Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 166. P. 200.
11. Abdeen Z. I., El Farargy A. F., Negm N. A. / J. Mol. Liq. 2018. Vol. 250. P. 335.
12. Rajabloo Z., Farahpour M. R., Saffarian P., Jafarirad S. / Sci. Rep. 2022. Vol. 12. P. 11592.
13. Sirotkin N. A., Gurina D. L., Khlyustova A. V., Costerin D. Y., Naumova I. K., Titov V. A., Agafonov A. V. / Plasma Process. Polym. 2021. Vol. 18. P. 2000169.
14. Khlyustova A., Sirotkin N., Kraev A., Agafonov A., Titov V. / J. Appl. Polym. Sci. 2021. Vol. 138. P. 51174.
15. Sirotkin N., Khlyustova A., Costerin D., Naumova I., Titov V., Agafonov A. / Plasma Process. Polym. 2022. Vol. 19. P. 2100093.
16. Sirotkin N. A., Khlyustova A. V., Titov V. A., Krayev A. S., Nikitin D. I., Dmitrieva O. A., Agafonov A. V. / Plasma Chem. Plasma Process. 2020. Vol. 40. P. 571.

17. Sirotkin N., Khlyustova A., Costerin D. Naumova I., Kalazhokov Z., Kalazhokov K., Titov V., Agafonov A. / Polym. Bull. 2023. Vol. 80. P. 5655.
18. Wang D., Song R., Liu Y., Ren J., Zhang Y., Wang T., Qu G. / J. Clean. Prod. 2021. Vol. 316. P. 128295.
19. Titov V. A., Lipatova I. M., Mezina E. A., Kuz'micheva L. A. / High Energy Chem. 2016. Vol. 50. P. 411.
20. Sampaio S., Viana J. C. / Materials Science and Engineering: B. 2021. Vol. 263. P. 114807.
21. Chaurasia V., Chand N., Bajpai S. K. / J. Macromol. Sci.: A. 2010. Vol. 47. P. 309.
22. Meng Y. / Nanomaterials (Basel). 2015. Vol. 23. P. 1124.
23. Miri A., Mahdinejad N., Ebrahimi O., Khatami M., Sarani M. / Mater Sci. Eng. C: Mater. Biol. Appl. 2019. Vol. 104. P. 109981.
24. Kooti M., Matouri L. / Trans. F. Nanotechnol. 2010. Vol. 17. P. 73.

PACS: 52.80. Wg, 82.33.Xj

Plasma-chemical treatment of chitosan and polyvinyl alcohol to obtain nanocomposites with wound-healing properties

V. A. Titov¹, N. A. Sirotkin¹, I. K. Naumova², M. A. Khizhkina³,
T. G. Kicheeva³ and A. V. Agafonov¹

¹ G. A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences
1 Akademicheskaya st., Ivanovo, 153045, Russia
E-mail: titov25@gmail.com

² Ivanovo State University
39 Ermaka st., Ivanovo, 153025, Russia

Verkhnevolzhsky State Agrobiotechnological University
45 Sovetskaya st., Ivanovo, 153000, Russia

Received 26.06.2024; accepted 17.07.2024

Polymer composites containing silver, zinc oxide (ZnO) or copper oxide (Cu₂O) nanoparticles were synthesized using a discharge between silver, zinc or copper electrodes immersed in an aqueous suspension of chitosan and polyvinyl alcohol. The discharge was excited between rods with a diameter of 1 mm at an interelectrode gap of 1.5 mm and an average discharge current of 0.25 A in a cell with a liquid volume of 100 ml. The erosion rate of the electrodes (0.012–0.014 g/min) was determined by weighing them before and after the experiment. The resulting compositions were studied by electron absorption spectroscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. Tests on laboratory mice showed that the nanocomposites accelerate wound healing: complete healing using composites with Ag or ZnO nanoparticles was observed on the 7th – 10th day, while in the control group – only on the 13th day.

Keywords: plasma, underwater discharge, chitosan, modification, nanoparticles, wound healing properties.

REFERENCES

1. Laurano R., Boffito M., Ciardelli G. and Chiono V., Eng. Regen. **3**, 182 (2022).
2. Deng C.-M., He L.-Z., Zhao M., Yang D. and Liu Y., Carbohydr. Polym. **69**, 583 (2007).
3. Almaieli L. M. A., Khalaf M. M., Gouda M., Elmushyakh A., Abou Taleb M. F. and Abd El-Lateef H. M., Polymers **15**, 211 (2022).
4. Mohandas A., Deepthi S., Biswas R. and Jayakumar R., Bioact. Mater. **3**, 267 (2018).

5. Rinaudo M., *Prog. Polym. Sci.* **31**, 603 (2006).
6. Perelshtein I., Ruderman E., Perkas N., Tzanov T., Beddow J., Joyce E., Mason T. J., Blanes M., Mollá K., Patlolla A. et al., *J. Mater. Chem. B.* **1**, 1968 (2013).
7. Loo H. L., Goh B. H., Lee L.-H. and Chuah L. H., *Asian. J. Pharm. Sci.* **17**, 299 (2022).
8. Venkataprasanna K. S., Prakash J., Vignesh S., Bharath G., Venkatesan M., Banat F., Sahabudeen S., Ramachandran S. and Devanand Venkatasubbu G., *Int. J. Biol. Macromol.* **143**, 744 (2020).
9. Baghaie S., Khorasani M. T., Zarrabi A. and Moshtaghian J., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **28**, 2220 (2017).
10. Khorasani M. T., Joorabloo A., Adeli H., Milan P. B. and Amoupour M., *Int. J. Biol. Macromol.* **166**, 200 (2021).
11. Abdeen Z. I., El Farargy A. F. and Negm N. A., *J. Mol. Liq.* **250**, 335 (2018).
12. Rajabloo Z., Farahpour M. R., Saffarian P. and Jafarirad S., *Sci. Rep.* **12**, 11592 (2022).
13. Sirotkin N. A., Gurina D. L., Khlyustova A. V., Costerin D. Y., Naumova I. K., Titov V. A. and Agafonov A. V., *Plasma Process. Polym.* **18**, 2000169 (2021).
14. Khlyustova A., Sirotkin N., Kraev A., Agafonov A. and Titov V., *J. Appl. Polym. Sci.* **138**, 51174 (2021).
15. Sirotkin N., Khlyustova A., Costerin D., Naumova I., Titov V. and Agafonov A., *Plasma Process. Polym.* **19**, 2100093 (2022).
16. Sirotkin N. A., Khlyustova A. V., Titov V. A., Krayev A. S., Nikitin D. I., Dmitrieva O. A. and Agafonov A. V., *Plasma Chem. Plasma Process.* **40**, 571 (2020).
17. Sirotkin N., Khlyustova A., Costerin D., Naumova I., Kalazhokov Z., Kalazhokov K., Titov V. and Agafonov A., *Polym. Bull.* **80**, 5655 (2023).
18. Wang D., Song R., Liu Y., Ren J., Zhang Y., Wang T. and Qu G., *J. Clean. Prod.* **316**, 128295 (2021).
19. Titov V. A., Lipatova I. M., Mezina E. A. and Kuz'micheva L. A., *High Energy Chem.* **50**, 411 (2016).
20. Sampaio S. and Viana J. C., *Materials Science and Engineering: B.* **263**, 114807. (2021).
21. Chaurasia V., Chand N. and Bajpai S. K., *J. Macromol. Sci.: A.* **47**, 309 (2010).
22. Meng Y., *Nanomaterials (Basel)* **23**, 1124 (2015).
23. Miri A., Mahdinejad N., Ebrahimi O., Khatami M. and Sarani M., *Mater. Sci. Eng. C: Mater. Biol. Appl.* **104**, 109981 (2019).
24. Kooti M. and Matouri L., *Trans. F. Nanotechnol.* **17**, 73 (2010).