



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2019 00456

(22) Data de depozit: 26/07/2019

(41) Data publicării cererii:
29/01/2021 BOPI nr. 1/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL DE CHIMIE
MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN
IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ
NR.41 A, IAȘI, IS, RO

(72) Inventatori:
• DROBOTĂ MIOARA, STR.CICOAREI,
NR.46, IAȘI, IS, RO;

• AFLORI MAGDALENA,
STR. GRIGORE URECHE NR. 1,
BL. MĂRĂCINEANU, ET. II, AP. 9, IAȘI, IS,
RO;
• IOANID EMIL GHIODEL, STR.SARARIEI,
NR.43, IAȘI, IS, RO;
• TRANDABĂȚ FLORENTIN ALEXANDRU,
BULEVARDUL INDEPENDENȚEI, NR.11,
BL.D1, SC.B, ET.6, AP.16, IAȘI, IS, RO;
• PISLARIU MARIUS, ȘOS. VOINEȘTI,
NR.43 A, ET.2, AP.5, IAȘI, IS, RO

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNUI FILM
DE POLIETILENTEREFTALAT PENTRU APLICAȚII
BIOMEDICALE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui film de polietilentereftalat utilizat ca substrat pentru pansamente sau plasturi dermici în aplicații medicale. Procedeu, conform invenției, constă în aceea că un film poliesteric este supus unui tratament în plasmă rece de radio frecvență, la o putere de 60 W în atmosferă de argon, urmat de imersarea timp de 24 h într-o soluție preparată prin dizolvarea albuminei serice bovine în apă

distilată împreună cu 1% nanoparticule de ZnO, la o agitare de 1000 rpm, la temperatura camerei, timp de 24 h, urmat de spălare și uscare, rezultând un film de polietilentereftalat având o grosime de 30 μm, bătut, îmbogățit cu nanoparticule de ZnO având activitate antimicrobiană și antifungică.

Revendicări: 1



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2019 00456
Data depozit ... 26 -07- 2019

Procedeu de obținere a unui film de polietilentereftalat pentru aplicații biomedicale

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui film de PET de grosime 30 μm bierat tratat în plasma rece de radio frecvență de 13,5 MHz, îmbogățit cu nanoparticule de ZnO în vederea creșterii biocompatibilității destinat aplicațiilor medicale.

Polietilentereftalatul (PET) este cel mai important reprezentant al clasei din care face parte, mai precis al poliesterilor. Poliesterii se identifică cu compuși macromoleculari ce conțin grupe funcționale interne de tip $-\text{COO}-$ ca parte componentă a lanțului principal. Poliesterul este obținut din dimetiltereftalat și etilenglicol ca materii prime.

Proprietățile sale sunt legate de structura aromatic-alifatică a lanțului, având conformația catenelor planar zig-zagoformă, cu inelul aromatic dispus în planul zig-zagului fragmentul $\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}-$ făcând cu axa catenei un unghi care favorizează o împachetare compactă a lanțurilor și imprimându-i un caracter de polimer hidrofob.

PET-ul constituie poliesterul cel mai des utilizat în aplicații, iar domeniile de utilizare sunt extrem de diverse, de la electronică și electrotehnică la ambalaje, la decorațiuni, de la textile la suporturi pentru diverse materiale depuse, este produs și comercializat sub formă de filme, folii și fibre. Toate aceste forme de materiale au proprietățile mecanice, optice și electrice îmbunătățite și sunt stabilizate prin tratamente de întindere în starea înalt elastică (etirare).

Interesul din punct de vedere al aplicațiilor se menține actual în domeniul sanitar și medical, prin obținerea de materiale textile de unică folosință, cum ar fi șorțuri de protecție, capace, instrumente chirurgicale și pansamente, precum și

materiale reutilizabile, cum ar fi prosoape sau haine de lucru, folosite în aplicațiile uzuale.

Hidrofobicitatea ridicată a PET-ului, face ca aderența polimerilor hidrofilii să fie redusă sau chiar absentă.

Tratamentul în plasmă rece de radiofrecvență este un procedeu prin care crește hidrofilia suprafeței și se scindează legături de la suprafața filmelor fără a altera proprietățile de volum.

În timpul tratamentului în plasmă se rup legăturile de la suprafața filmelor de polimer ce implică formarea unor specii noi, precum radicali liberi metastabili, ioni, fotoni și neutroni, aceste specii chimic active favorizând formarea de noi compuși cu grupe reactive carbonil, carboxil, hidroxil, amino și altele, care interacționează în continuare cu alte grupări funcționale.

În brevetul CN105660696 (A) sunt descrise mai multe procedee de aplicare a unor tratamente de acoperire a filmelor de PET care au activitate antibacteriană pe bază de agenți anorganici. Este descrisă obținerea de agenți antimicrobieni nano- $\text{Cu}_2\text{O-ZnO}$ obținuți din CuSO_4 și EDTA și $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ în soluție apoasă, respectiv de apă distilată, peste care a fost adăugat NH_3 în diferite rapoarte molare și apoi 1,4-hidrochinone, urmată de pulverizarea acestor particule în câmp magnetic pe filmul de PET.

Un dezavantaj al acestui procedeu este că implică o tehnologie laborioasă de obținere a particulelor de nano- $\text{Cu}_2\text{O-ZnO}$, și existența unui aparat de pulverizare în câmp magnetic a acestor particule, ceea ce conduce la mărirea prețului de cost.

Modificarea suprafeței filmelor poliesterice este prezentată și în brevetul KR100733915 (B1). În particular, se referă la un procedeu de depunere pe suprafața filmelor poliesterice, prin descărcare în plasmă, într-o incintă vidată cuplată la un generator de înaltă frecvență de 13,5 MHz, la temperatura de 25 °C în atmosferă de argon a unui strat de ZnO tampon cu grosime controlată. Procedeu

de producere a unui film transparent de oxid conductiv ZnO, se realizează la temperatura de 25°C, într-o atmosferă de azot sau într-o atmosferă de alt gaz inert. Filmul subțire de ZnO depus este dopat cu galiu (Ga), pentru producerea unui film transparent de oxid conductiv. Depunerea se realizează prin pulverizare în câmp electric, filmul obținut are proprietățile electrice și optice îmbunătățite.

Îmbunătățirea proprietăților electrice a stratului de ZnO pe filmul poliesteric are loc în funcție de grosimea stratului depus. Cristalinitatea filmului obținut se mărește cu creșterea dimensiunilor particulelor de ZnO.

Un dezavantaj al procedeelor descrise mai sus este că nu are aplicabilitate în domeniul biomedical.

În articolul *Materials* 2018, vol. 11, p. 707 este prezentat un procedeu de tratament în vederea obținerii de proprietăți antibacteriene pe câteva materiale textile printre care și PET(polietilentereftalat), PP(polipropilena) și PA(poliamida). Proprietățile antibacteriene au fost induse în materialele textile de către particulele de oxid de zinc depuse pe suprafața lor printr-o metoda hidrotermală. Materialele au fost tăiate la dimensiunea de 10x10 cm² și au fost imersate în soluția de tratare. Depunerea hidrotermică a fost efectuată utilizând un amestec de 100 mM hexametilentetramină (HMT) și azotat de zinc (Zn(NO₃)₂ x 6H₂O) în apă. Baia cu soluția chimică obținută, a fost agitată timp de 24 de ore și filtrată. Apoi s-au adăugat probele textile, sistemul a fost încălzit la 90 °C timp de 8 ore, la sfârșitul tratamentului probele textile au fost spălate și ultrasonate.

Materialele textile au fost tratate cu bacterii de aproximativ 1,2106 unități care formează colonii (CFU / ml) pentru *S. aureus* și 1,3107 (CFU / ml) pentru *E. coli*. De-a lungul anilor, au fost aplicate la operații simple până la tehnicile laparoscopice și la alte materiale moderne cum ar fi plasa poliesterică. Aplicarea implanturilor aloplastice a scăzut riscul în chirurgie, deoarece este un polimer elastic, țesătura sa specială împiedică fracturarea, este unul dintre implanturile

utilizate în mod obișnuit, din păcate, un dezavantaj semnificativ al acestui material îl reprezintă lipsa activității sale antimicrobiene, care conduce la dezvoltarea infecțiilor postoperatorii.

Procedeul descris prezintă dezavantajul lipsei unor studii despre creștere celulară necesară în cazul utilizării acestor materiale pentru obținerea de pansamente sau plasturi dermici.

Problema rezolvată de prezenta invenție constă în diversificarea gamei de biomateriale ce folosesc polietilentereftalatul (PET) drept substrat.

Invenția de față înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că în scopul biocompatibilizării, un film poliesteric (PET) este supus unui tratament în plasmă rece de radio frecvență (13,56 MHz), la o putere de 60W, în atmosferă de argon urmat de imersarea imediată timp de 24h, într-o soluție preparată prin dizolvarea a 10 mg BSA în apă distilată, omogenizată prin agitare magnetică urmată apoi de introducerea a particulelor de ZnO cu dimensiune de 30 nm la concentrație de 1% și 3%, spălare ulterioară cu apă obținută printr-un sistem de filtrare Milli-Q (Millipore) a filmelor tratate și uscarea acestora timp de 2 ore, într-o etuvă la temperatura de 30 °C cu ventilație, biocompatibilizarea fiind evidențiată prin utilizarea testului cu bromură de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu (MTT) și a unor teste antibacteriene.

Procedeul conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- Este un procedeu ecologic;
- Este sigur și ușor de exploatat;
- Număr redus de etape tehnologice;
- Permite obținerea de proprietăți dirijate și capacitate de transferare a proprietăților specifice compușilor activi biologic;
- Procedeul este netoxic;

- Procedul nu este costisitor.

Se dau în continuare două procedee de realizare a invenției:

Procedul 1: Filmul poliesteric de grosime 30 μm și dimensiuni 5x8 cm este introdus într-o incintă cilindrică de SiO_2 în exteriorul căreia sunt dispuși patru electrozi în formă de quadrupol, electrozi conectați la un generator de radio frecvență de 13.5 MHz.

Inițial în incintă se face vid de 0.5×10^{-1} mbar după care se introduce argon ca gaz de lucru la presiunea de $1,8 \times 10^{-1}$ mbar. Se amorsează descărcarea de radiofrecvență timp de 5 minute la o putere de 60W. După ce a fost tratat în plasmă, filmul poliesteric se imersează imediat, timp de 24h într-o soluție de albumină serică bovină (BSA) la temperatura camerei. Soluția de BSA a fost preparată prin dizolvarea albuminei serice bovină (10 mg) în 100 ml apă distilată împreună cu nanoparticule de ZnO cu dimensiuni de 30 nm în concentrație 1%, la o agitare de 1000 rpm la temperatura camerei (25 °C). După 24h filmul poliesteric este scos din soluția de tratare și spălat cu apă obținută printr-un sistem de filtrare Milli-Q (Millipore). Uscarea acestuia este efectuată într-o etuvă la temperatura de 25°C cu ventilație timp de 5h. Filmul este păstrat în condiții de atmosferă controlată (24 °C, umiditate 40%).

Procedul 2: Filmul poliesteric de grosime 30 μm și dimensiuni 5x8 cm este introdus într-o incintă cilindrică de SiO_2 în exteriorul căreia sunt dispuși patru electrozi în formă de quadrupol, electrozi conectați la un generator de radio frecvență de 13.5 MHz.

Inițial în incintă se face vid de 0.5×10^{-1} mbar după care se introduce argon ca gaz de lucru la presiunea de $1,8 \times 10^{-1}$ mbar. Se amorsează descărcarea radio frecvență timp de 5 minute la o putere de 60W. După ce a fost tratat în plasma, filmul poliesteric se imersează imediat, timp de 24h într-o soluție de albumina serică bovină (BSA) la temperatura camerei. Soluția de BSA a fost preparată prin

dizolvarea albuminei serice bovină (10 mg) în 100 ml apă distilată împreună cu nanoparticule de ZnO cu dimensiuni de 30 nm în concentrație 3%, la o agitare de 1000 rpm la temperatura camerei (25 °C). După 24h filmul poliesteric este scos din soluția de tratare și spălat cu apă obținută printr-un sistem de filtrare Milli-Q (Millipore). Uscarea acestuia este efectuată într-o etuvă la temperatura de 25°C cu ventilație timp de 5h. Filmul este păstrat în condiții de atmosferă controlată (24h, umiditate 40%).

Dinamica suprafeței unui polimer/biomaterial se poate descrie cu ajutorul măsurătorilor de unghi de contact deoarece se examinează stratul de suprafață pe care sunt prezente particulele de ZnO și BSA adsorbită până la o adâncime a razei de acțiune a forțelor interfaciale implicate în organizarea suprafeței.

Astfel, se obține procentul grupărilor funcționale de natură nepolară și polară de pe suprafața PET-ului. Unghiul de contact static a fost măsurat prin metoda picăturii de lichid, la temperatura camerei, cu un aparat KSV CAM 101 (KSV Instruments, Helsinki, Finlanda). Pentru acest studiu s-a folosit două lichide: apă bidistilată și etilen glicol. Pentru a avea un rezultat statistic, s-au făcut măsurători pe trei regiuni diferite ale suprafeței și s-au înregistrat câte 6 imagini pentru fiecare lichid în parte.

Valorile unghiurilor de contact pot fi utilizate pentru a estima tensiunea superficială a solidului. Pe baza acestor măsurători se pot calcula parametri ce caracterizează suprafața solidului și capacitatea de absorbție a acestuia (umectabilitatea), ca de exemplu: energia liberă a suprafeței, tensiunea interfacială solid-lichid, lucrul de adeziune etc.

Table 1. Valorile unghiurilor de contact pentru materialele noi obținute.

Cod Probă	Unghi de contact
-----------	------------------

	(Θ)	
	Apa	Etilenglicol
PET	81	54.7
PET-BSA_ZnO_1%	53.8	26.7
PET-BSA_ZnO_3%	52	22.9

Măsurătorilor unghiului de contact au arătat o scădere a unghiului cu apa a filmelor tratate în plasmă și immobilizate cu BSA îmbogățite cu nanoparticule de ZnO. Cu creșterea concentrației de nanoparticule de ZnO lucrului de adeziune W_a crește de la 84.18 mN/m pentru PET la 117.54 mN/m pentru PET-BSA_ZnO_1% și 115.75 mN/m pentru PET-BSA_ZnO_3%.

Tabel 2. Parametrii ce caracterizează suprafața filmului de PET investigat

Cod Probă	Lucrul de adeziune W_a (mN/m)	Energia liberă γ_{sv} (mN/m)	Component a polară γ_{sv}^p (mN/m)	Componenta dispersivă γ_{sv}^d (mN/m)	Energia interfacială solid/lichid γ_{SL} (mN/m)
PET	84.18	60.09	0.73	59.36	48.71
PET- BSA_ZnO_1%	117.54	47.54	31.27	16.27	2.80
PET- BSA_ZnO_3%	115.75	46.12	30.19	15.92	3.17

Evaluarea potențialului citotoxic al filmelor de PET tratate în plasmă și modificate cu albumină bovină serică îmbogățită cu nanoparticule de ZnO, cu

celule fibroblaste primare din derm de iepure *Albino rabbit*, s-a realizat efectuând testul cu bromură de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu (testul MTT).

Din Figura 1 prezentată mai jos se poate observa că filmele poliesterice tratate în plasmă rece de radio frecvență la o putere de 60W, au prezentat valori ale viabilității celulare cu diferențe semnificative pentru cele două concentrații de 1% și respectiv 3% de ZnO. Filmele ținute în condiții de contact direct cu liniile celulare fibroblaste primare din derm de iepure Albino rabbit, au avut viabilitatea celulară după 24, 48 și 72 ore de incubare în creștere pe când la o concentrație de 3% scad la până la 72 ore devenind cu acțiune citotoxică. Valorile viabilității celulare de aproximativ 90% la 48 ore și 97% la 72 ore, au evidențiat faptul că materialul polimeric PET-BSA_ZnO 1% tratat la o putere de 60 W cu soluție de BSA_ZnO 1% concentrația nu induce acțiuni citotoxice asupra celulelor, permițând o proliferare continuă a celulelor fibroblaste.

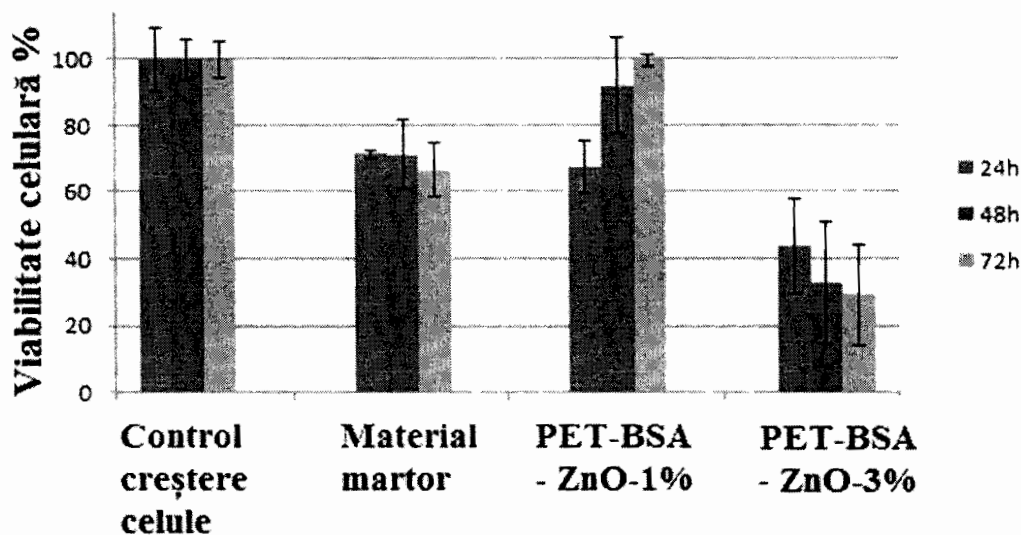


Figura 1. Rezultatele testului MTT

Analizele de activitate antimicrobiană ale probelor s-au efectuat prin alegerea de patru specimene de ciuperci (*Aspergillus niger* ATCC 53346, *Fusarium* ATCC 20327, *Penicillium chrysogenum* ATCC 20044, *Alternaria alternate* ATCC 8741) din cultura pură și două specii de bacterii (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27813 și *Bacillus* sp.) din care s-au preparat suspensii microbiene în conformitate cu metoda coloniei directe, suspensia microbiană constând dintr-un amestec de 6 microorganisme. Procedura succesivă de diluare a fost utilizată pentru prepararea suspensiei de microorganisme. Încărcarea finală a soluției stocate preparate a fost în concentrație de 1×10^{-4} $\mu\text{g} / \text{ml}$. Pentru aceste determinări s-au folosit plăci Petri cu agar de mediu de cultură - Sabouraud și agar - agar de la Merck.

Activitatea antimicrobiană prezentată în tabelul 3 fost testată prin determinarea concentrației minime de inhibare (MIC) utilizând metoda difuziei discului. Toată gama MIC a fost urmărită conform liniilor directoare NCCLS (NCCLS, 1997).

În plăcile Petri, mediul de cultură standard a fost însămânțat cu suspensia de microorganisme pe toată suprafața. Discul de difuzie este reprezentat pe probele PET-BSA_ZnO_1% și PET-BSA_ZnO_3% cu dimensiunile de 1 cm^2 . Evaluarea MIC a fost efectuată în raport cu proba PET. Plăcile inoculate s-au incubat la 320°C timp de 7 zile. Primele observații au fost făcute după 24 de ore prin măsurarea zonei de inhibare și măsurarea finală după 7 zile.

Tabel 3: Rezultatele activității antimicrobiale ale probelor de film investigate

Probe	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	Ciuperi				Bacterii	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PET-BSA_ZnO_1%	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
PET-BSA_ZnO_3%	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
PET	-	-	-	-	-	-

Nu are limită de inhibiție –

Rezultatele indică faptul că cele două probe analizate au o activitate bună antibacteriană și antifungică, filmul PET-BSA_ZnO_3% are o zonă de inhibare de 0,8 mm iar PET-BSA_ZnO_1% de 0,3 mm comparativ cu filmul PET netratat care nu are activitate antimicrobiană.

Revendicare

Procedeu de obținere a unui film de polietilentereftalat cu grosimea de 30μm și dimensiuni de 5x8 cm pentru aplicații biomedicale caracterizat prin aceea că în scopul obținerii biocompatibilității, filmul este tratat initial într-o instalație de cuarț în care se amorsează o descărcare în plasmă rece de radio frecvență de 13,5 MHz la 60W, în atmosferă de argon, la $1,8 \cdot 10^{-1}$ mbar, urmată de imersarea imediată a filmului într-o baie termostată (25 °C) cu soluție ce conține albumină serică bovină, obținută prin dizolvarea a 10 mg în 100 ml apă distilată și nanoparticule de ZnO la două concentrații de 1% sau 3%, timp de 24h, uscarea filmului fiind efectuată într-o etuvă timp de 5h, evaluarea proprietăților biomedicale efectuându-se cu testul citotoxic cu bromură de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu (MTT) și teste antimicrobiene.