

УДК 544.723, 544.032

Синтез биосовместимых поверхностей методами нанотехнологии

А.П. Алехин¹, Г.М. Болейко¹, С.А. Гудкова¹, А.М. Маркеев¹, А.А. Сигарев¹,
В.Ф. Токнова¹, А.Г. Кириленко², Р.В. Лапшин², Е.Н. Козлов³, Д.В. Тетюхин³

¹ГОУ ВПО «Московский физико-технический институт (ГУ)», 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

²ФГУП «НИИ физических проблем им. Ф.В. Лукина, 103460, Москва, Зеленоград, пр. 4806, 6

³ООО «Конмет», 125413, Москва, ул. Онежская, 24/1

E-mail: alekhin@mail.mipt.ru

Поступила в редакцию: 17.12.2009

Принята в печать: 09.06.2010

Исследовано влияние низкотемпературной (20–60 °С) модификации поверхности полимеров (полиэтилен низкой плотности (ПЭНП), полиуретан (ПУ)) методом импульсного ионно-плазменного нанесения углеродного покрытия на биосовместимые свойства перечисленных полимеров. Определены оптимальные параметры технологического режима для формирования на поверхности материалов мозаичных углеродных наноструктур толщиной $0.3 \div 15$ нм с размерами кластеров $10 \div 500$ нм. Подобные структуры обладали повышенными гемосовместимыми свойствами. Для исследования были использованы сканирующая электронная и атомно-силовая микроскопия, рамановская спектроскопия.

Исследовано воздействие на морфологию поверхности полиметилметакрилата (ПММА) фотонного излучения спектра криптоновой лампы с длиной волны $\lambda = 123.6$ нм и спектра синхротронного излучения («белый» пучок), предварительно обработанную кислородной высокочастотной плазмой. В ходе фотонной обработки варьировались: продолжительность воздействия (от единиц до десятков минут) и остаточное давление воздуха в рабочей камере (2 Па и 100 Па). Разработанная методика сглаживания микро- и нанорельефа может быть использована для улучшения биосовместимости исходных поверхностей ПММА.

Разработаны основы двухстадийной технологии создания биоактивных поверхностей на титановых носителях, заключающейся в химической обработке поверхностей для создания микрорельефа (2–3 мкм) и в нанесении строго контролируемого по химическому составу и толщине (10–60 нм) покрытия диоксида титана. В работе проведены исследования, направленные на выявление влияния механизмов и технологических параметров процессов атомно-слоевого осаждения TiO_2 на химический состав, тип кристаллической структуры, равномерность нанесения на поверхности сложной формы (конформность) и биоактивность модифицированных поверхностей.

SYNTHESIS OF BIOCOMPATIBLE SURFACE BY NANOTECHNOLOGY.

The modification of a surface of polymers (polyethylene of low density (PELD), polyurethane (PU) by a method of pulse ionic-plasma drawing of a carbon covering the low temperature (20–60 °C) was investigated. Optimum parameters of a technological mode for formation on a surface of materials carbon mozaic nanostructures by thickness $0.3 \div 15$ nanometer with the sizes of the clusters $10 \div 500$ nanometer were determined. For investigations have been used scanning electronic microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM) and Raman-spectroscopy.

Interaction of films PMMA with photon ($\lambda = 123.6$ nm) and synchrotron radiation was investigated. The surface of PMMA films was developed by high frequency oxygen plasma before. The verification parameters were interaction time and vacuum pressure in the reaction camera. Method of flattening micro- and nanostructure used to improve biocompatible properties of PMMA surface was created.

Technological basis of formation biocompatible surface of titanium implants consists of two parts: chemical etching of titanium to create roughness Ti-surface and conformally deposited TiO_2 on it. The influence of mechanisms and technological aspects of atomic layer deposition of TiO_2 on crystal structure, chemical constitution, conformity, bioactivity of modified surface was shown in this article.

СИНТЕЗ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКЛАСТЕРНЫХ СТРУКТУР ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСОВМЕСТИМЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ

В последние годы реализация синтеза углеродных наноструктур в виде кластеров, фуллеренов, трубок на поверхностях различных материалов позволяет управлять их биомедицинскими параметрами [1].

В то же время отсутствие знаний о механизме формирования гемосовместимых поверхностей не позволяет установить однозначной зависимости свойств углеродного наноструктурного покрытия и биомедицинских параметров, что сильно затрудняет их внедрение в практическую имплантологию.

Модифицирование кластерным углеродом поверхности полиэтилена низкой плотности (ПЭНП) толщиной 60 мкм (ГОСТ 10354-82) и полиуретана «Витур» (ПУ) толщиной 150 мкм (марка Т-0533-90), используемых в медицинской практике, проводилось на установке УВНИПА – 1–001 по методике импульсно-плазменного осаждения, описанной ранее в работах [2, 3].

Попытки использовать углеродное покрытие в виде сплошной пленки на поверхностях медицинских полимеров не приводили к устойчивому положительному результату. В то же время формирование на поверхности слоя углерода из кла-

стеров с размерами, позволяющими адсорбироваться «полезным» молекулам белка крови – альбумина и запрещающими адсорбироваться «вредным» молекулам фибриногена, дает заметный эффект, выражающийся в увеличении тромбозостивности модифицированных материалов [4].

Нами предложена схема реализации гемосовместимой поверхности, которая базируется на двух фактах: 1) к сплошному углеродному покрытию нет адгезии никаких молекул белков плазмы крови; 2) адгезия осуществляется по избирательному принципу в свободные от углерода места полимера в соответствии геометрических размеров молекул белков плазмы крови с размерами свободных от углерода областей поверхности. Рис. 1 иллюстрирует механизм избирательной адсорбции молекул альбумина по сравнению с молекулами фибриногена.

На рис. 1а показано, что на исходную поверхность адсорбируются оба типа молекул. Причем, молекула фибриногена, имеющая размеры (~ 50 нм), которые в 4–5 раз превышают размеры альбумина (~ 9 нм), в силу термодинамических требований будет почти необратимо адсорбироваться максимальной площадью молекулы. Однако после модификации, когда часть поверхности экранируется кластерами угле-

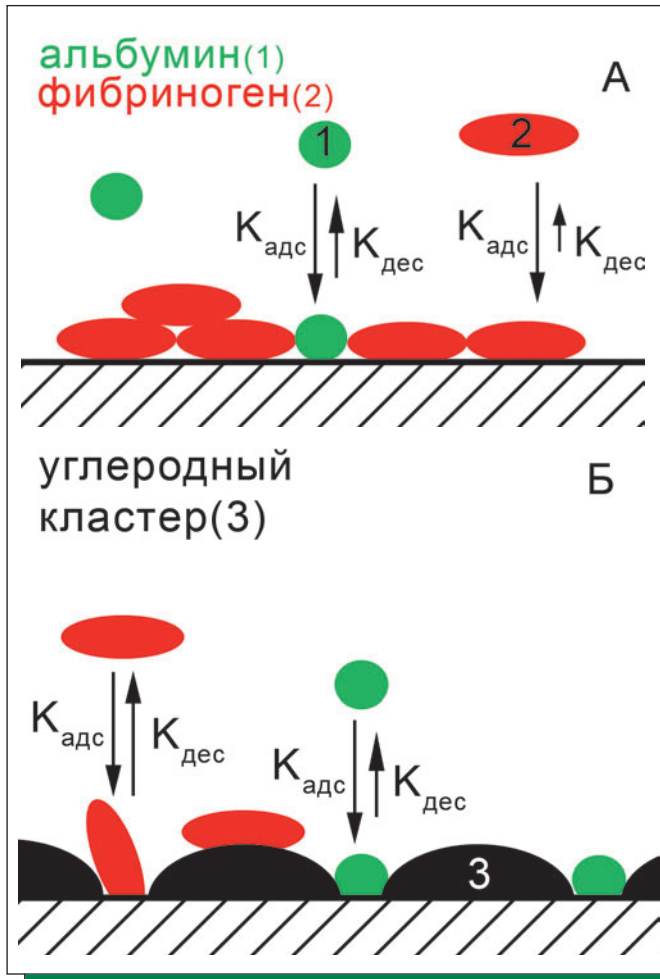


РИСУНОК 1 | Схема адсорбции-десорбции молекул фибриногена (2) и альбумина (1) на исходной (А) и модифицированной (Б) углеродом поверхности полимера. Стрелками показаны относительные величины константы скорости адсорбции ($K_{адс}$) и десорбции ($K_{дес}$) молекул альбумина и фибриногена

рода (рис. 1б), молекуле фибриногена не хватает «посадочного» места. В то же время на свободные от углерода области могут адсорбироваться молекулы альбумина, имеющие значительно меньшие размеры. Практическая реализация такой адсорбции позволит улучшить гемосовместимые свойства поверхности полимеров и избежать образования тромбов.

Для осуществления избирательной адсорбции альбумина и фибриногена, показанной на рис. 1, требуется нанострукту-

рировать поверхность углеродными кластерами таким образом, чтобы открытые пробельные области поверхности между ними, являющиеся активными центрами адсорбции, имели размеры уровня единиц или десятков нанометров.

Известно, что импульсный режим плазменного нанесения углеродного покрытия, в отличие от непрерывного осаждения, позволяет достаточно просто регулировать степень пересыщения пара углерода и, следовательно, механизм начальных стадий роста покрытия [5]. При небольших степенях пересыщения (Δg) рост пленки может осуществляться через послойный или двухмерный механизм. При этом вероятность такого процесса, характеризуемая изобарно-изотермическим потенциалом, $\Delta G_2 \sim 1/\Delta g$. При увеличении пересыщения пара возможна смена двухмерного механизма зародышеобразования на трехмерный механизм, причем, $\Delta G_3 \sim 1/\Delta g^2$, т.е. зависимость уже степенная, а более неравновесные условия обозначают большую возможность влияния на морфологические свойства поверхностных образований углерода посредством изменения технологических условий процесса.

Кроме того, импульсный режим способствует улучшению отвода тепла с поверхности подложки, т.к. время между импульсами (скважность) на порядок превышает длительность импульса.

По характерным особенностям морфологии можно сделать оценку параметров технологических режимов установки, внести коррективы и получить требуемый для дальнейших исследований рельеф морфологии.

Динамика зародышеобразования и роста пленки по модели Фольмера-Вебера (островковый механизм) схематически показана на рис. 2.

На стадии формирования углеродного покрытия необходимо определить порог перколяции (случай, показанный на рис. 2В) – образование на поверхности материала углеродной сетки с электрически сплошной структурой, условно проводящей электрический ток при заполнении подложки на 70 ÷ 80 %. Почему так важно определение порога перколяции? На стадии осаждения углеродного покрытия порог перколяции определяет формирование на поверхности полимера мозаичных углеродных наноструктур с размерами углеродных кластеров в нанометровом диапазоне. Это приводит к изменению физико-химических и медико-биологических свойств, что дает возможность управлять гемосовместимостью модифицированной поверхности [7, 8]. С большой вероятностью порог перколяции определяет конечный этап формирования на поверхности гемосовместимой мозаичной кластерной наноструктуры. Порог перколяции определяется в зависимости от количества импульсов генератора углерод-

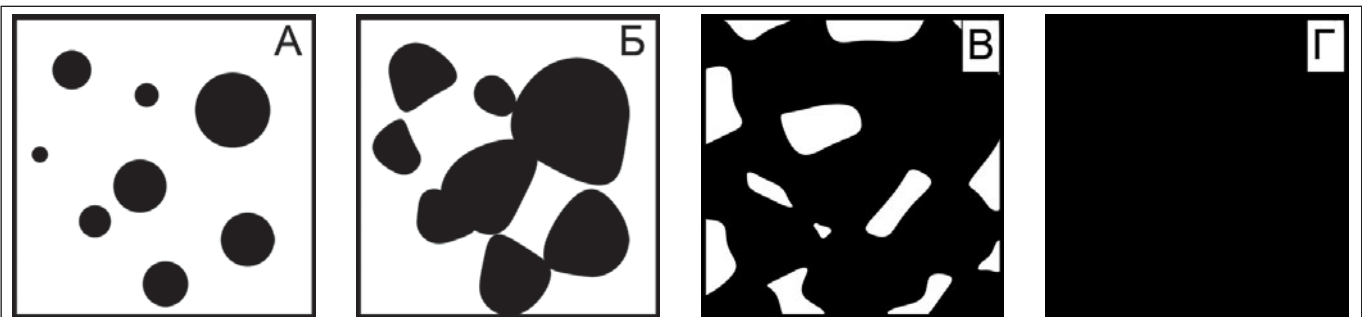


РИСУНОК 2 | Динамика зародышеобразования и роста пленки: А – образование и рост углеродных кластеров без взаимодействия между собой, Б – разрастание зародышей и образование островков; В – коалесценция островков при большой степени покрытия поверхности образца и образование на поверхности материала зародышевой сетки с электрически сплошной структурой, условно проводящей электрический ток (порог перколяции); Г – образование сплошной пленки

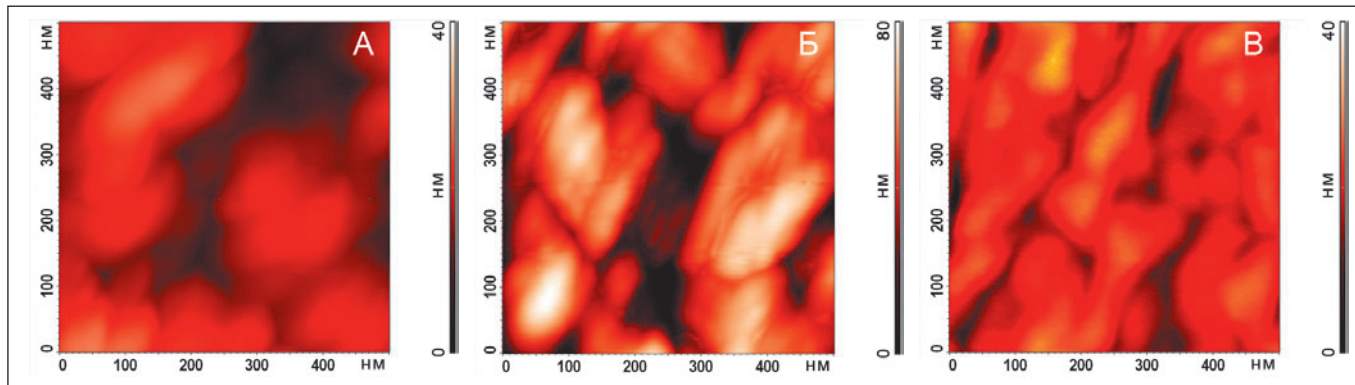


РИСУНОК 3 | 2D-СЗМ сканы модифицированной поверхности полиэтилена низкой плотности при частоте следования импульсов углеродной плазмы $f = 0.1$ Гц (А), $f = 0.3$ Гц (Б), $f = 1.0$ Гц (В) и количестве импульсов $N = 30-50$

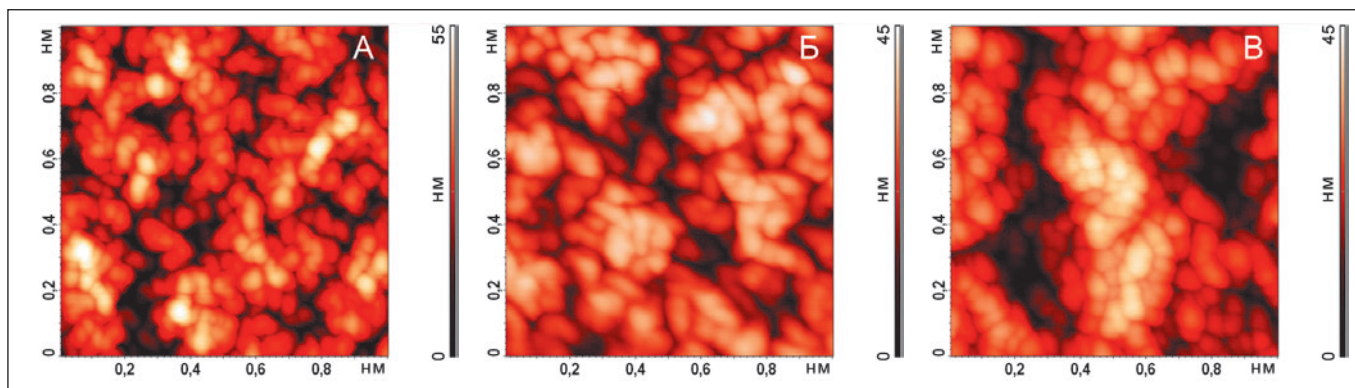


РИСУНОК 4 | 2D-СЗМ сканы модифицированной поверхности полиуретана при частоте следования импульсов углеродной плазмы $f = 0.1$ Гц (а), $f = 0.3$ Гц (б), $f = 1.0$ Гц (в) и количестве импульсов $N = 30-50$

ной плазмы (N) и частоты их следования (f). Толщина наносимого углеродного покрытия варьировалась в пределах 0.3 ± 15 нм. Предложенный технологический метод экспериментально реализован и запатентован [6].

ЗАВИСИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОТ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НАНОСТРУКТУР

Экспериментально были определены технологические параметры процесса модифицирования углеродными кластерами для порога перколяции, соответствующие значениям частоты следования импульсов $f = 1$ Гц и их количеству $N = 50$ (толщина углеродного покрытия ~ 7.5 нм).

Морфология поверхности экспериментальных образцов изучалась методами сканирующей электронной (СЭМ) и зондовой микроскопией (СЗМ).

Электронная микроскопия проводилась на микроскопе Camscan 4 Cambridge с типичным увеличением $1000 \times \dots 5000 \times$, что соответствует размеру изучаемых полей в десятки микрон. По характерным особенностям морфологии можно сделать оценку параметров технологических режимов установки, внести коррективы и получить требуемый для дальнейших исследований рельеф морфологии.

Установлено, что рельеф модифицированной поверхности полимеров значительно менялся в зависимости от количества импульсов углеродной плазмы и частоты следования импульсов. Динамика изменения имеет следующую тенденцию: при малом количестве осаждаемого материала ($N = 2-10$) не существует условий для образования необходимой морфологии поверхности, соответствующих рельефу, показанному на рис. 2в. Поверхность модифицированного углеродом

полимера в таком случае глобулирована, т.е. состоит из единичных кластеров размером $100-200$ нм. При больших значениях частоты и количества импульсов ($f \geq 10$ Гц и $N \geq 100$) формируется структура от фибрилл размером $3000-4000$ нм до сплошных цепей. Наиболее предпочтительным является режим с $f = 0.3-1.0$ Гц и $N = 30-50$.

Прямым доказательством образования кластерной структуры углерода на поверхности полиэтилена служат исследования, проведенные сканирующей зондовой микроскопией на воздухе при комнатной температуре. Для исследований использовался СЗМ марки Solver™ Pro М. Измерения выполнялись в динамическом режиме (тэппинг-мода) в двух- (2D-СЗМ) и трехмерном (3D-СЗМ) изображении. Коэффициент упругости кантилевера приблизительно равен 20 Н/м, частота резонанса 131.851 КГц, радиус кончика иглы равнялся нескольким нанометрам. Предельное разрешение микроскопа, оцениваемое по минимально различимым элементам поверхности пленки, составляло 10 нм.

Наиболее характерные сканы модифицированной при различных частотах импульсов углеродной плазмы ($f = 0.1-1.0$ Гц) при количестве импульсов $N = 30-50$ поверхности ПЭНП и ПУ приведены на рис. 3, 4.

При увеличении частоты следования импульсов от 0.1 до 1.0 Гц и/или количества импульсов от 2 до 50 происходит увеличение размеров углеродных кластеров или их агрегатов и заполняемости поверхности углеродом на $70-80\%$. При этом наблюдается формирование мозаичной углеродной сетки с электрически проводящей структурой.

На основании полученных результатов можно заключить, что оптимальной частотой следования импульсов и скоро-

стью осаждения углеродсодержащих пленок, с точки зрения образования кластерной структуры на поверхности полимеров, являются частота 0.3–1 Гц и скорость осаждения 0.1–0.2 нм/сек.

С целью получения дополнительной информации о структуре модифицирующих углеродных покрытий был проведен математический анализ их рамановских спектров [9].

Анализ таких параметров рамановской спектроскопии (рис. 5), как рамановский сдвиг, высота и ширина модельных подспектров, с использованием результатов работ [10] позволяет сделать следующие выводы об электронной структуре сформированных слоев на полимерных подложках. Очевидно наличие в слоях как sp^2 , так и sp^3 -углеродной гибридизации. При этом элементы с sp^2 -гибридизацией в соответствии с общими принципами термодинамики формируются в кластеры наибольшего размера. Среди возможных видов кластеров наиболее энергетически вероятными являются кластеры в виде шестичленных колец, которые могут быть как одиночными, так и соединенными между собой по несколько штук. Между sp^2 -гибридизациями внутри кластеров есть разориентировка по углам и кольца имеют форму неправильных шестиугольников. Связи между кластерами характеризуются элементами орбитали sp^3 -гибридизации, причем кластеры могут быть хаотично ориентированы относительно друг друга.

Медико-технические испытания, проведенные в НИИ трансплантологии и искусственных органов Минздрава РФ (анализ адгезированных тромбоцитов с учетом морфологических признаков, определение степени активации системы комплемента по общей гемолитической активности комплемента сыворотки крови человека) показали (табл.), что модификация поверхностей полимеров углеродом приводит к уменьшению их адгезивных свойств по отношению к тромбоцитам, а также к значительному снижению индуцированной константы скорости активации системы комплемента, которые вычислялись по времени полулиза сенсibilизированных эритроцитов барана сывороткой человека до и после инкубации с образцом. Поверхность является гемосовместимой, если величина $K_{инд}$ меньше или равна 1.5.

Отметим, что для исходных поверхностей полимеров значения $K_{инд}$ составляли для ПЭНП $K_{инд} = 5.1$ и для полиэфируретана $K_{инд} = 5.5$.

Анализ таблицы показывает, что модифицирование значительно улучшает гемосовместимые свойства поверхности полимеров, при толщине углеродной пленки 5–12 нм и размерах кластеров 50–120 нм.

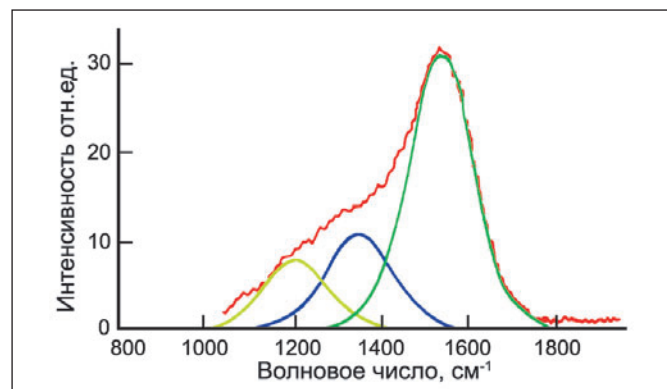


РИСУНОК 5 | Анализ рамановских спектров модифицирующих углеродных покрытий. Общая линия (1), линии, отвечающие sp^2 -гибридизации (2), sp^3 -гибридизация (3), разориентировочные состояния (4)

ТАБЛИЦА | Зависимость размеров кластеров, константы адсорбции молекул белков плазмы крови и константы скорости индуцированной активации системы комплемента от толщины формируемой углеродсодержащей пленки.

Толщина углеродной пленки, нм	Размеры кластеров, нм	Константа адсорбции, $K_{адс}$, мл/мг.сек	Константа скорости индуцир. активации системы комплемента, $K_{инд}$
		ПЭНП Витур	
менее 5	отсутствуют	0.15 0.2	2.0 ± 0.3 4.5 ± 0.3
5–12	50–120	0.03 0.03	0.33 ± 0.04 0.4 ± 0.05
более 12	заполнение поверхности более 80 %	0.25 0.1	4.3 ± 0.5 3.5 ± 0.4

МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИМЕТИЛМЕТАКРИЛАТА

В настоящее время полиметилметакрилат (ПММА) находит широкое практическое применение как базовый материал для создания имплантатов в трансплантологии [11].

ПЛАЗМОХИМИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ПОВЕРХНОСТИ ПММА

В работах [12, 13] показано влияние плазмохимического и ВУФ-излучения на изменение приповерхностных свойств ряда медицинских полимеров. За счет деструкции полимеров, образования активных химических радикалов и частиц существует возможность управлять биосовместимыми параметрами материала. Следствием приповерхностных превращений полимера является изменение его шероховатости. Поэтому нами изучено влияние плазмохимической обработки в среде кислорода с небольшим парциальным давлением ~ 2 Па и последующего экспонирования экспериментальных образцов фотонами спектра вакуумного ультрафиолета на шероховатость поверхности ПММА в нанометровом диапазоне.

Исходная пленка полиметилметакрилата (молекулярная масса $8 \cdot 10^4$) толщиной около 0.8 мкм наносилась центрифугированием на полированную поверхность Si(100) (рис. 6а) и дополнительно наноструктурировалась в кислородной высокочастотной (ВЧ) плазме (13.56 МГц) в течение 20 с.

Анализ параметров шероховатости и геометрических размеров особенностей поверхности (нанохолмиков и нанозерен) пленки ПММА проводился на площади 1.4×1.4 мкм² мето-

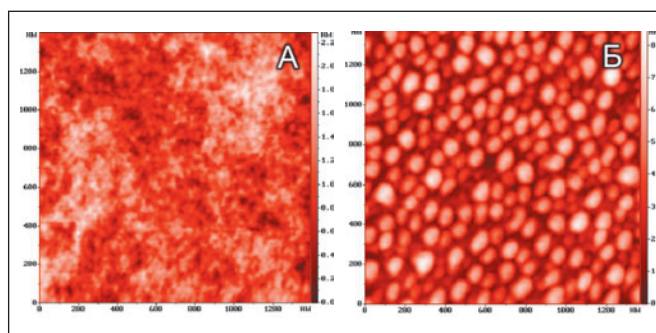


РИСУНОК 6 | АСМ-сканы пленки ПММА: (А) исходная поверхность после нанесения на кремниевую подложку; (Б) наноструктурированная поверхность, полученная в результате обработки исходной поверхности в кислородной ВЧ-плазме

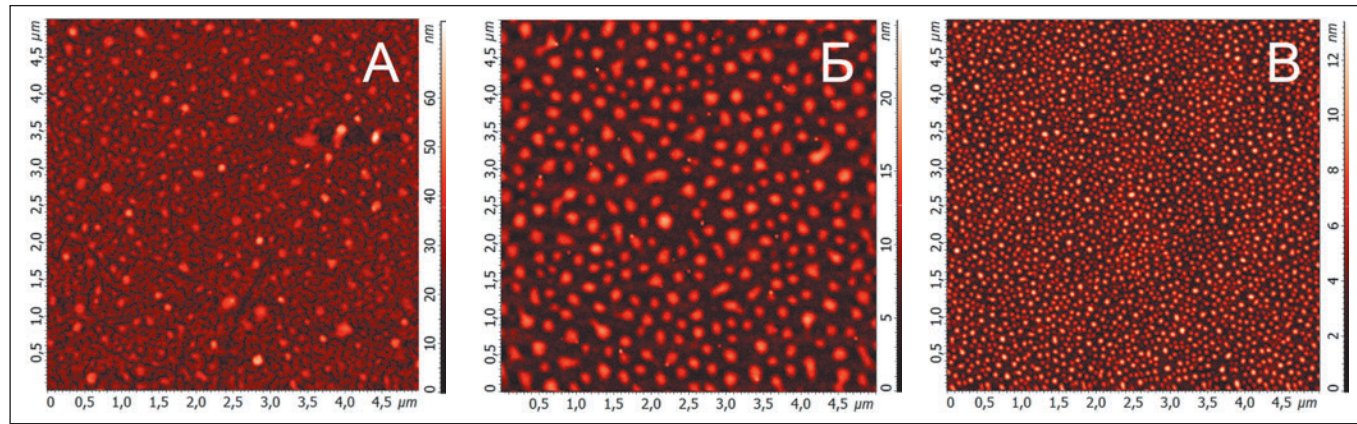


РИСУНОК 7 | АСМ-изображения пленки полиметилметакрилата ПММА, облученные белым пучком: а) 1 мин, б) 5 мин, в) 17 мин

дами сканирующей зондовой микроскопии. Геометрические размеры особенностей определялись в ходе компьютерного распознавания рельефа, который выполнялся по методу особенность-ориентированного сканирования (ООС) в виртуальном режиме [14].

Обнаружено, что в результате плазмохимической обработки пленки ПММА на поверхности образовывались нанозерна (рис. 6б) с латеральными размерами около 66 нм, высотой около 1.8 нм и расстоянием между соседними нанозернами около 104 нм (средние значения). Количество нанозерен, приходящихся на единицу поверхности, составило приблизительно 122 мкм^{-2} . Технология, используемая для наноструктурирования, обеспечивает хорошую воспроизводимость результатов.

Образование нанозерен можно объяснить локальными изменениями плотности пленки ПММА. Локальные изменения плотности связаны с наличием в большинстве полимеров неоднородностей – в первую очередь глобул/зерен, ламель, а также клубков, пучков, узлов, перекручиваний, переплетений молекулярных цепей и т. п., что соответствует данным других исследований [15, 16].

В ходе обработки ПММА в кислородной плазме происходит существенная химическая модификация полимера: в частности, возникают полярные функциональные группы [17, 18] – карбонатная ($\text{O}_2\text{C}=\text{O}$) и карбонильная ($\text{C}=\text{O}$). Кроме того, заметно изменяются энергии связи атомов углерода в разных группах молекулы. Количество кислорода в приповерхностном слое значительно возрастает в первые секунды обработки, затем его рост замедляется, после чего происходит сравнительно медленное проникновение кислорода в глубь материала [17].

ОБРАБОТКА ПММА ВУФ-ИЗЛУЧЕНИЕМ

Обработка ПММА ксеноновыми лампами с характерной длиной волны $\lambda = 123.6 \text{ нм}$ в вакуумной среде при остаточном давлении воздуха 2 и 100 Па продолжительностью 0.5, 1, 2, 5, 10 и 20 мин проводилась на установке, описанной ранее в работе [3].

Энергия фотонов на длине волны $\lambda = 123.6 \text{ нм}$ составляет около 10 эВ, этой энергии достаточно для возбуждения молекулы полимера и разрыва химических связей: $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{H}$, $\text{C}-\text{CH}_2$, $\text{C}-\text{O}$ [15]. В ходе фотолиза образуются низкомолекулярные газообразные продукты: CO , CO_2 , H_2 , H_2O , CH_4 ; а также высокомолекулярные газообразные продукты, такие как: метилформиат HCOOCH_3 , формальдегид $\text{CH}_2=\text{O}$, метанол CH_3-OH , метилметакрилат $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{COOCH}_3$ [19]. Кроме того, под действием ВУФ в пленке происходят межмо-

лекулярные сшивки. Таким образом, наблюдаемый эффект сглаживания нанорельефа вакуумным ультрафиолетом возникает в результате совместного действия следующих процессов: фототравления полимера, переосаждения газообразных продуктов фотолиза и образования межмолекулярных сшивок. Степень сглаживания при фиксированной интенсивности излучения определяется, главным образом, временем обработки.

Анализ полученных результатов показывает, что уже после 2 мин ВУФ-облучения хорошо заметно сглаживание особенностей наноструктурированной поверхности пленки ПММА. После 10 минут облучения величина средней шероховатости уменьшается в 2.6–3 раза, средний латеральный размер нанозерна уменьшается в 2 раза, а его средняя высота уменьшается в 15–18 раз. Таким образом, после 10 мин ВУФ-воздействия полученная поверхность по своим параметрам становится практически гладкой.

МОДИФИЦИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ПММА СИНХРОТРОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Такое исследование представляет значительный интерес для модифицирования приповерхностных слоев полимера жестким ВУФ ($\lambda = 50-100 \text{ нм}$) и мягким рентгеновским излучением ($\lambda = 10-50 \text{ нм}$). Модифицирование поверхности в коротковолновой области спектра проводилось с помощью синхротронного излучения малого кольца синхротрона КИСИ. Однако выделить монокалимированные пучки различных длин волн из всего спектра синхротронного излучения пока технически сложно, по этой причине пленки ПММА обрабатывались «белым» пучком СИ. «Белый» пучок представляет собой излучение всего спектра СИ ($\lambda = 5-400 \text{ нм}$).

При облучении «белым» пучком высокоэнергичные фотоны образуют радикалы (реакция идет по типу I по Норришу), разрывая химические связи ($\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{H}$, $\text{C}=\text{O}$) в зависимости от их энергии и образуя простейшие продукты H_2 , CO , CO_2 , CH_4 , однако на больших длинах волн происходит обратный процесс – сшивка, т.е. идет процесс деструкции и последующей сшивки продуктов реакции. На рис. 7 представлены изображения рельефа поверхности, на которых виден эффект самоорганизации и уменьшения размера наноструктурированных частиц. Данный эффект можно объяснить тем фактом, что полимеры, имеющие четвертичный атом углерода и невысокую теплоту полимеризации, подвергаются деполимеризации (термодеструкция). А также происходит фотодеструкция УФ: при наличии $\text{C}=\text{O}$ уменьшается прочность связей в основной цепи. Оба процесса приводят к деструкции полимера с количественным выходом мономера [15]. Таким

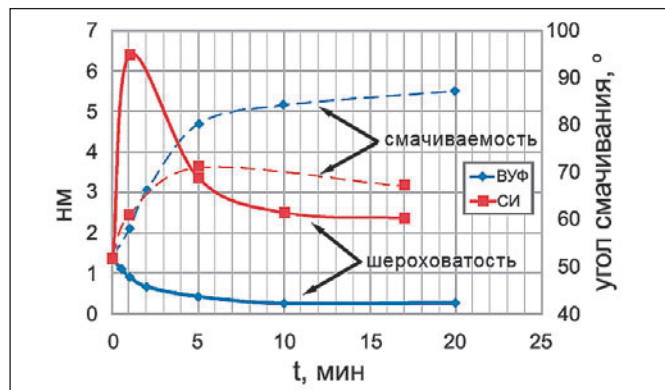


РИСУНОК 8 | Зависимость среднеквадратичной шероховатости поверхности пленок ПММА и угла смачивания от времени экспонирования

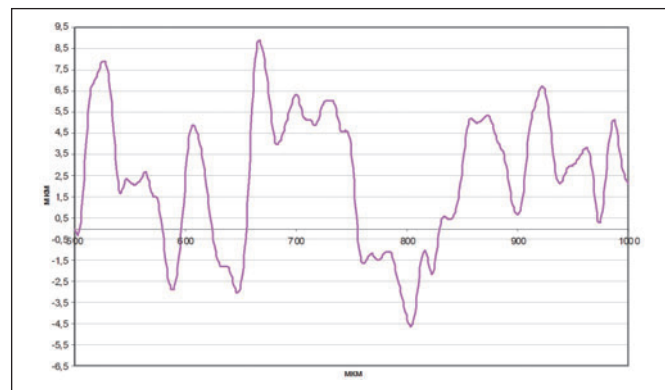


РИСУНОК 9 | Профилограмма титана после пескоструйной обработки и травления

образом, в результате экспонирования экспериментальных образцов «белым» пучком СИ на поверхности образуются структурированные мономеры материала.

Для оценки биосовместимости моделированных поверхностей проверены изменения гидрофильно-гидрофобного баланса. На рис. 8 представлена зависимость среднеквадратичной шероховатости и контактного угла смачивания пленок ПММА от времени облучения ВУФ и СИ. После 10 минут облучения значение среднеквадратичной шероховатости перестает зависеть от времени воздействия излучением и определяется параметрами (длина волны, интенсивность) источника.

При облучении ВУФ контактный угол смачивания коррелирует с изменением среднеквадратичной шероховатости поверхности ПММА. В то же время воздействие СИ позволяет одновременно изменять как топографию поверхности (шероховатость), так и ее химический состав, варьируя лишь время излучения. При этом основной вклад в смачиваемость поверхности вносит ее химическое состояние.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что СИ влияет на размеры и шероховатость особенностей поверхности более существенно, чем ВУФ-излучение.

СОЗДАНИЕ БИОАКТИВНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ МЕТОДОМ АСО

Большинство производимых в мире дентальных имплантатов изготавливается из коммерчески доступного титана Grade 4. Наиболее приемлемым типом взаимодействия между имплантатом и костной тканью принято считать остеоинтеграцию, которая представляет собой целый комплекс физиологических реакций, напрямую зависящих от морфологии поверхности имплантата и ее химического состава [20].

Развитый микрорельеф поверхности титана с параметром шероховатости $R_a \sim 1.4-1.7$ мкм достигается двумя способами: пескоструйной обработкой частицами корунда Al_2O_3 размерами от нескольких десятков до нескольких сотен микрон и/или травлением поверхности имплантата различными кислотами [21]. Помимо требований к микрорельефу поверхность титана должна обладать высокой смачиваемостью (гидрофильностью), что обеспечивается достижением необходимого химического состояния поверхности имплантата [22].

В работе [23] показано, что модифицирование поверхности одной из наиболее распространенных кристаллических форм диоксида титана — анатазом — приводит к увеличению биоактивных свойств имплантата.

С учетом вышеперечисленных данных было решено создать новую комбинированную технологию формирования биосовместимой поверхности медицинского титана.

РАЗРАБОТКА ИНТЕГРИРОВАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ МОДИФИКАЦИИ ПОВЕРХНОСТИ ИМПЛАНТАТОВ

Для травления образцов, предварительно отмытых в ультразвуковой ванне при $50^\circ C$ в изопропиловом спирте (ОСЧ), а затем в сверхчистой воде, использовались различные составы неорганических кислот. Количественные составы электролитов, время и условия травления выбирались экспериментально по двум показателям: формируемый микрорельеф, который должен составлять 2–3 мкм, и угол смачивания, определяемый по воде, от 0 до 5° .

Исследование топологии травленной поверхности титана методами профилометрии (прибор ALPHA-STEP компании Tencor Instruments) показало, что она имеет развитый рельеф с максимальным перепадом высот $Z_{max} = 13.4$ мкм и средней шероховатостью $R_a = 2.61$ мкм (рис. 9).

На рис. 10 показано влияние времени травления на топографию поверхности и изменение угла смачивания (установка KSV Instruments). Также приведены РЭМ-изображения поверхности, при различных временах травления.

Из рис. 10 видно, что при времени травления 30 с наблюдается минимальное значение угла смачивания ($\sim 4^\circ$) и наиболее развитый микрорельеф поверхности. Данные растровой электронной микроскопии подтверждают тот факт, что «рваные» края особенностей рельефа поверхности образца под действием кислотного травления сглаживаются, однако на поверхности возникают активные центры селективного травления титана. В результате поверхность приобретает мелкопористую структуру. Пористость поверхности измерялась с помощью методов зондовой микроскопии в полуконтактном режиме на атомно-силовом микроскопе Solver Pro—M NT-MDT. Максимальный размер области сканирования

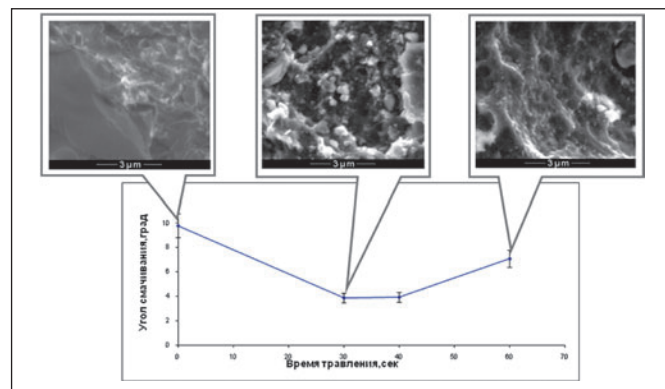


РИСУНОК 10 | Зависимость угла смачивания от времени травления со вставками РЭМ-изображений поверхностной морфологии образцов

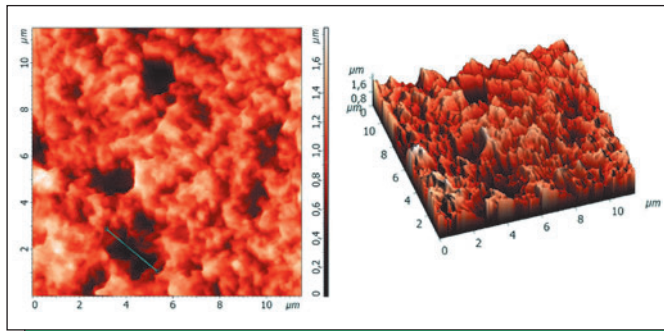


РИСУНОК 11 | Двумерное и трехмерное АСМ-изображение поверхности титана после травления в смеси кислот

составлял 11.5x11.5 мкм. Латеральный размер пор составил 2–4 мкм (рис. 11).

Однако травление поверхности приводило к существенному разбросу в наблюдаемых значениях контактного угла смачивания от 5 до 90°.

Действительно, исследования химического состояния поверхности методом Оже-электронной спектроскопии (ОЭС) на приборе Perkin-Elmer AES показали, что на поверхности образцов, проявляющих гидрофобные свойства в процессе травления, появляются связи Ti-C, свидетельствующие о присутствии углерода на поверхности титана (рис. 12). Повышенное содержание углеводородов на поверхности титана придает гидрофобные свойства материалу.

Таким образом, предложенный метод позволяет сформировать развитый микрорельеф титана. Однако образование карбидоподобного слоя на протравленной поверхности не позволяет добиться устойчивой по всей площади образца гидрофильности (рис. 12.).

Поэтому нами предпринята попытка стабилизировать химический состав поверхности с развитым микрорельефом методом атомарно-слоевого осаждения.

Почему выбран метод АСО?

Метод атомарно-слоевого осаждения (АСО) позволяет [24–26]:

- получать регулярно построенные твердые вещества с высокой степенью стехиометрии и необходимой кристаллографией при низких температурах (300–500 К);
- осуществлять фазовые превращения, минуя высокие энергетические барьеры, связанные с зародышеобразованием, и тем самым обеспечивать конформность покрытия на уровне 0.5–1.0 нм.

Отличительной чертой АСО является импульсная попеременная подача реагентов на поверхность подложки. Между импульсами подачи реагентов реактор продувается инертным газом или откачивается, и в случае правильного подбора параметров процесса реализуются условия, когда только хемосорбированный монослой одного реагента остается на подложке для реакции с другим реагентом при его последующей импульсной подаче. В литературе этот тип процесса получил название самонасыщаемого или самоконтролируемого [27]. При многократном повторении реакционных циклов возможна реализация процесса послыциклов роста тонкой пленки, толщина которой управляется просто заданием числа повторений реакционных циклов.

В данной работе был использован вертикальный тип реактора АСО, модели Sunale-R150 фирмы Picosun Oy. Диоксид титана осаждали с применением этоксититана $Ti(OC_2H_5)_4$ (97 %) и воды. Из-за низкого давления насыщенного пара $Ti(OC_2H_5)_4$ его подавали в реактор из прогреваемого источника при температуре 150 °С. Температура подложки составляла 250 °С.

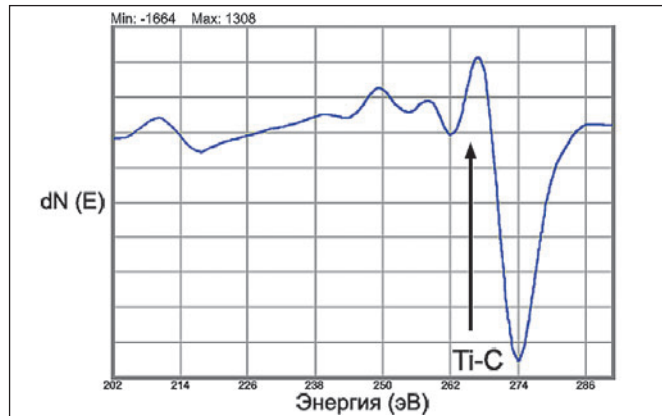


РИСУНОК 12 | Оже-спектр титана после травления в смеси кислот в области неполного смачивания (колебания контактного угла смачивания: 5–90°)

Эллипсометрический анализ сформированных пленок диоксида титана показал, что их показатель преломления составляет 2.48, стандартное отклонение толщины пленки по поверхности подложки – 1.8 %. Скорость осаждения составляла 0.039 нм за цикл. Нами использовались пленки толщинами 8, 24 и 48 нм, полученные, соответственно, за 200, 600 и 1200 реакционных цикла.

Кроме высокой точности поддержания заданной толщины, метод АСО в силу того, что процесс реакции протекает только на поверхности в одном хемосорбированном слое, позволяет достичь уникальных результатов по однородному покрытию развитых поверхностей больших площадей, в том числе и сложной формы.

Нами экспериментально проверен этот факт на тестовых структурах, полученных ионно-лучевой обработкой пластины кремния для приготовления трапециевидных канавок с шириной основания ~ 2 мкм и глубиной ~ 4 мкм и последующим нанесением на такую поверхность слоя диоксида титана методом АСО.

Из рис. 13 видно, что толщина слоя TiO_2 во всех местах сложного рельефа практически одинакова.

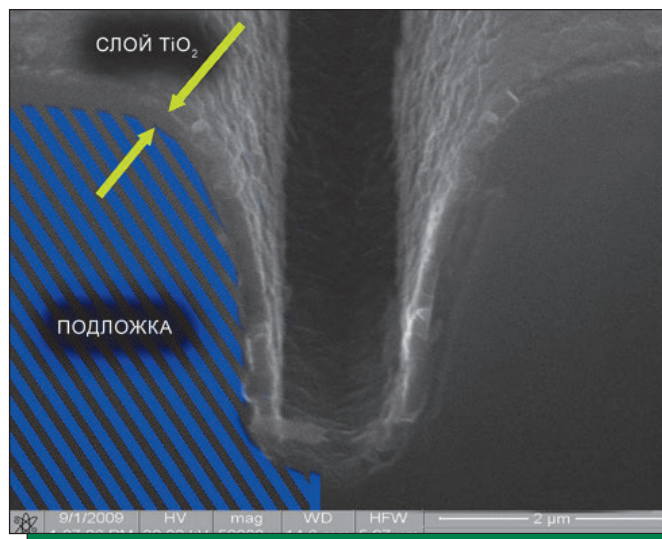


РИСУНОК 13 | РЭМ-изображение поверхности кремния после ионно-лучевой обработки с последующим нанесением TiO_2 методом АСО

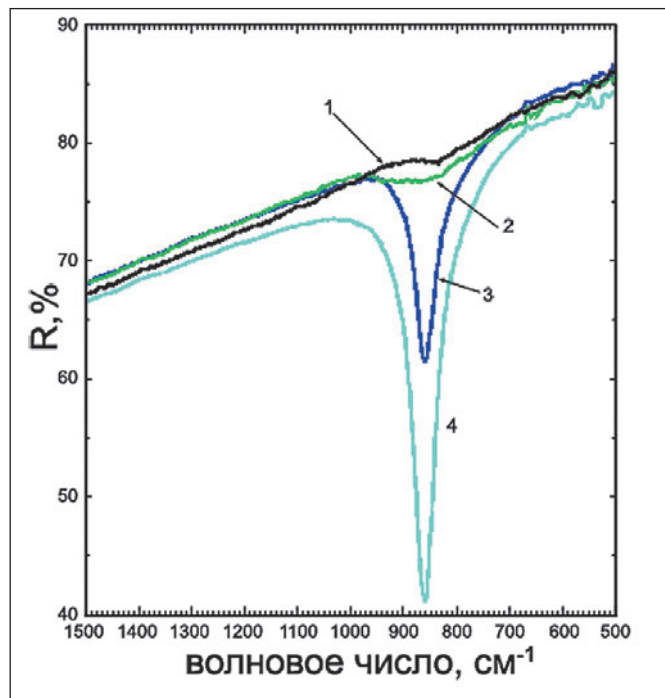


РИСУНОК 14 | ИК-спектр пленок TiO₂ на полированном титане в зависимости от количества реакционных циклов: 1 – исходная подложка Ti; 2–4 – TiO₂ АСО 200, 600 и 1200 реакционных цикла, соответственно

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛЕНОК TiO₂, ПОЛУЧЕННЫХ НА ТИТАНОВЫХ НОСИТЕЛЯХ МЕТОДОМ АСО

Исследования методами Фурье-ИК-спектроскопии (ИК-Фурье-спектрометр Perkin-Elmer Spectrum 100) и рентгеновской дифрактометрии (универсальный рентгеновский дифрактометр Rigaku Ultima IV) показали, что структура получаемых TiO₂-пленок зависит от числа реакционных циклов.

Так, на рис. 14 приведены Фурье-ИК-спектры, измеренные в режиме отражения от титановой подложки до (кривая 1) и после АСО TiO₂ (кривые 2–4). Видно, что на спектрах от титановой подложки (кривая 1) и от TiO₂, осажденного за 200 циклов (кривая 2), присутствует широкая полоса поглощения в диапазоне 700–1000 см⁻¹, соответствующая аморфному диоксиду титана [9]. Увеличение числа циклов до величины n > 600 циклов приводит к появлению на Фурье-ИК-спектрах острого пика поглощения на 870 см⁻¹, соответствующего кристаллическому диоксиду титана со структурой анатаза (кривые 3, 4). По данным Фурье-ИК-спектроскопии, аналогичные изменения от аморфной структуры до поликристаллической в модификации анатаза наблюдались при увеличении числа циклов и для пленок, получаемых АСО на кремниевых подложках.

Появление поликристаллической структуры анатаза в осаждаемом слое при увеличении числа циклов подтверждается и данными рентгеновской дифрактометрии (рис. 15).

Кроме того, проведенные измерения контактного угла смачивания после осаждения диоксида титана методом АСО с n > 600 для поверхностей, предварительно подготовленных с помощью кислотного травления, показали, что его величина воспроизводима и находится в пределах 0–5°.

Для оценки биосовместимых модифицированных титановых образцов проведены эксперименты по стандартной методике [28] определения способности клеток остеобластов МС3Т3-Е1 к пролиферации, адгезии и дифференцировке. Способность клеток к дифференцировке контролировалась по изменению активности щелочной фосфатазы на образцах с различной подготовкой поверхности (рис. 16).

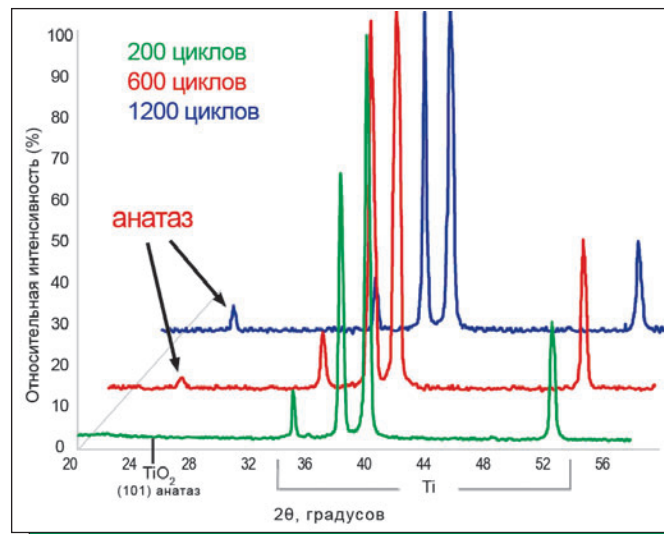


РИСУНОК 15 | Рентгеновские спектры от пленки TiO₂ на титане, полученные за 200, 600 и 1200 реакционных циклов АСО

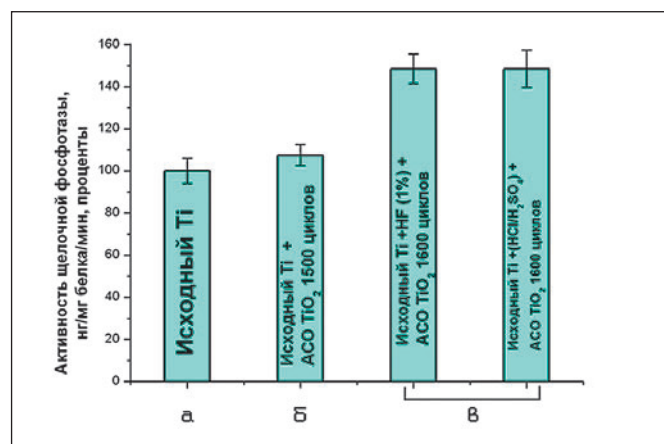


РИСУНОК 16 | Зависимость активности щелочной фосфатазы на образцах с различной подготовкой поверхности медицинского титана. Исходная поверхность – (а), поверхность, подвергнутая кислотному травлению – (б), поверхность, модифицированная комбинацией двух операций – кислотным травлением и последующим АСО диоксида титана в структуре анатаза – (в)

По сравнению с исходным образцом титана наблюдалось увеличение активности щелочной фосфатазы. Причем наилучшие результаты были получены при комбинированной технологии (получение развитой рельефной поверхности и нанесение на нее диоксида титана методом АСО).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны технологические методы построения структур «модифицированный полимер» – «кровь», включающие создание мозаичной структуры на поверхности некристаллической подложки в виде углеродных кластеров размерами 10–500 нм. Получены зависимости медико-технических параметров изготовленных структур от технологических условий модификации поверхности за счет обеспечения конкурентной адсорбции белков плазмы крови.

Изучено сглаживание неровностей пленки полиметилметакрилата (ПММА) обработкой в кислородной высокочастотной плазме (13.56 МГц) и вакуумным ультрафиолетом (ВУФ) с длиной волны λ = 123.6 нм интенсивностью 7 мДж см⁻² с⁻¹, а также синхротронным излучением (λ = 5–400 нм).

Сформированная наноструктурированная поверхность состояла из нанозерен со средним диаметром 66 нм и средней высотой 2 нм. Среднее расстояние между соседними нанозернами равнялось 104 нм. Обнаружено, что наноструктурированная поверхность пленки ПММА является частично упорядоченной. Разработанная методика ВУФ-сглаживания может быть использована для улучшения биосовместимости ПММА-имплантатов.

Комбинированная технология обработки медицинского титана Grade 4, включающая химическое травление в смесях неорганических кислот и атомно-слоевое осаждение TiO_2 , позволяет получить следующие параметры модифицированной поверхности:

- рельеф $R_a \sim 3$ мкм;
- гидрофильность (0–5°)
- химический состав (TiO_2 -анатаз).

Экспериментально показано, что использование АСО способно предотвратить ингибирование клеточной адгезии к поверхности материала и может быть перспективной технологией для производства дентальных имплантатов, обладающих высокой биосовместимостью. ■

Авторы благодарят за помощь в оформлении работы Токнова Н.Ю., Васильеву Т.М., Глушанкову Н.А., Кириленко Е.П., Митяева А.С., Лебединского Ю.Ю. за проведенные измерения.

Работа поддержана Федеральным агентством по науке и инновациям (государственные контракты № 02.435.11.2017 и № 02.740.11.0786); ООО завод «Конмет»; Федеральным агентством по образованию (проект № 2.1.2/1819).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пул Ч., Оуэнс Ф. Нанотехнологии. М: Техносфера. 2006.
2. Алехин А.П., Кириленко А.Г., Лапшин Р.В., Романов Р.И., Сигарев А.А. // Исследование наноструктурированного углерода на полиэтилене. Журнал прикладной химии. 2003. Т. 76. № 9. С. 1536–1540.
3. Алехин А.П., Кириленко А.Г., Лапшин Р.В. // Морфология поверхности тонких углеродных пленок, осажденных из плазмы на полиэтилен низкой плотности. Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2004. № 2. С. 3–9.
4. Chu P.K., Tang B.Y., Wang L.P., Huang N. // Third-generation plasma immersion ion implanter for biomedical materials and research. Review of scientific instruments. 2001. V. 72. № 3. P. 1660.
5. Барыбин А.А., Сидоров В.Г. Физико-технологические основы электроники. Учебник для вузов. С-Пб: Лань. 2001.
6. Алехин А.П. и др. Способ модифицирования полимера. Патент РФ № 2325192 от 27.05.2008 г.
7. Севастьянова В.И. Биосовместимость. М: ИЦ ВНИИГС. 1999.
8. Севастьянов В.И., Титушкин И.А., Васин С.Л., Розанова И.Б., Алехин А.П. // Влияние структурных и энергетических свойств углеродных покрытий на адгезию тромбоцитов человека. Перспективные материалы. 1999. № 5. С. 24.
9. Алехин А.П., Врублевский А.И., Маркеев А.М., Романов Р.И., Неволин В.Н. // О структуре и свойствах аморфных углеродсодержащих пленок, формируемых магнитоактивным СВЧ-плазменным осаждением. Поверхность. 1996. № 10. С. 47.
10. Tamba M., Kawamura K., Okazaki K., Amemiya H. // Formation of Diamond Like Carbon by a Pure Carbon Arc Under High Vacuum. Jpn. J. Appl. Phys. 2001. V. 40. P. 1064–1066.
11. Немец Е.А., Полухина О.С., Егорова В.А., Кузнецов А.В., Василец В.Н., Севастьянов В.И. // Модифицирование полимерных биоматериалов вакуумным ультрафиолетовым излучением. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2002. № 3. С. 116.
12. Vasilets V.N., Kusnetsov A.V., Sevastianov V.I. // Vacuum ultraviolet treatment of polyethylene to change surface properties and characteristics of protein adsorption. J. Biomedical Materials Research. 2004. V. 69A. P. 428–435.
13. Пономарев А.Н., Василец В.Н., Тальрозе Р.В. // Плазмохимическое модифицирование полимеров. Химическая физика. 2002. № 21(4). С. 96–102.
14. Лапшин Р.В., Алехин А.П., Кириленко А.Г., Одинцов С.Л., Кротков В.А. // Сглаживание шероховатостей поверхности полиметилметакрилата вакуумным ультрафиолетом. Поверхность. 2010. № 1. С. 35.
15. Vourdas N., Tserepi A., Gogolides E. // Control of Nanotexture and Wetting Properties of Polydimethylsiloxane from Very Hydrophobic to Super-Hydrophobic by Plasma Processing. Nanotechnology. 2007. V. 18. № 125304. P. 7.
16. Yoshida S., Ono T., Esashi M. // Photolithographic fabrication of gated self-aligned parallel electron beam emitters with a single-stranded carbon nanotube. Nanotechnology. 2008. V. 19. № 475302. P. 9.
17. Chai J., Lu F., Li B., Kwok D.Y. // Wettability Interpretation of Oxygen Plasma Modified Poly(methyl methacrylate). Langmuir. 2004. V. 20. № 25. P. 10919–10927.
18. Lim H., Lee Y., Han S., Cho J., Kim K.-J. // Surface treatment and characterization of PMMA, PHEMA, and PHPMA. Journal of Vacuum Science and Technology A. 2001. V. 19. № 4. P. 1490–1496.
19. Sulca N., Lungu A., Sorina Alexandra Garea, Iovu H. // Monitoring the synthesis of new polymer nanocomposites based on different polyhedral oligomeric silsesquioxanes using Raman spectroscopy. Journal of Raman Spectroscopy. 2009. V. 40. № 11. P. 1641–1644.
20. Алехин А.П., Маркеев А.М., Тетюхин Д.В., Козлов Е.Н., Степанова М.А. // Влияние физико-химических свойств поверхности титановых имплантатов и способов их модификации на показатели остеоинтеграции. Клиническая стоматология. 2009. № 3. С. 3.
21. Lampin M., Warocquier C., Legris C., Degrange M., Sigot-Luizard M.F. // Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. J. Biomed. Mater. Res. 1997. № 36. P. 99.
22. Zhao G., Schwartz Z., Wieland M., Rupp F., Geis-Gerstorfer J., Cochran D.L., Boyan B.D. // High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. J. Biomed. Mater. Res. 2005. № 74A. P. 49.
23. Heinrichs J., Jarmar T., Rooth M., Enqvist H. // In vitro bioactivity of atomic layer deposited titanium dioxide on titanium and silicon substrates. Key Engineering Materials. 2008. V. 361–363. P. 689.
24. Алесковский В.Б. Стехиометрия и синтез твердых соединений. Л: Наука. 1976.
25. Малыгин А.А. // Нанотехнология молекулярного наслаивания. Российские нанотехнологии. 2007. № 2. С. 87.
26. Лисичкин Г.В. Химия привитых поверхностных соединений. М: Физматлит. 2003.
27. Puurunen R.L. // Surface Chemistry of Atomic Layer Deposition: a Case of Study for the Trimethylaluminum/Water Process. J. Appl. Physics. 2005. №. 97. P. 121.
28. Hae-Won Kim, Hyoun-Ee Kim, Jonathan C. Knowles // Fluor-hydroxyapatite sol-gel coating on titanium substrate for hard tissue implants/Biomaterials. 2004. № 25. P. 3351–3358.