

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Томский
политехнический университет»

На правах рукописи

ЧЕРНОЗЕМ РОМАН ВИКТОРОВИЧ

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГИБРИДНЫХ
БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ВОЛОКНИСТЫХ СКЭФФОЛДОВ
НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА С УЛУЧШЕННЫМ
ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ОТКЛИКОМ**

1.3.8 Физика конденсированного состояния

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук, доцент
Сурменев Роман Анатольевич

Томск – 2022

Содержание

Введение.....	4
Глава 1. Теоретическая часть.....	14
1.1 Регенеративная костная тканевая инженерия.....	14
1.1.1 Требования, предъявляемые к биоматериалам для инженерии костной ткани.....	16
1.1.2 Формирование синтетического внеклеточного матрикса.....	18
1.2 Биомедицинское применение пьезоэлектрических материалов.....	23
1.2.1 Пьезоэлектрический эффект.....	24
1.2.2 Электромеханические характеристики пьезоэлектрических материалов.....	26
1.3 Полиоксиалканоаты и поли-3-оксибутират.....	28
1.3.1 Кристаллическая структура поли-3-оксибутирата.....	31
1.3.2 Пьезоэлектрические свойства поли-3-оксибутирата.....	33
1.4 Графен и материалы на его основе в медицине.....	36
1.4.1 Восстановленный оксид графена.....	38
1.4.2 Влияние ВОГ на пьезоэлектрические свойства полимера.....	39
Глава 2. Экспериментальная часть. Материалы и методы исследования.....	41
2.1 Используемые материалы и реактивы.....	41
2.2 Установка электроформования и параметры получения скэффолдов..	42
2.3 Методы исследований.....	44
2.3.1 Сканирующая зондовая микроскопия.....	44
2.3.2 Рентгеновский фазовый анализ.....	46
2.3.3 Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.....	47
2.3.4 Спектроскопия комбинационного рассеяния света и инфракрасная спектроскопия.....	48
2.3.5 Растровая электронная микроскопия.....	50
2.3.6 Исследование физико-механических свойств.....	51
2.3.7 Смачиваемость поверхности и свободная поверхностная энергия	52
2.3.8 Исследование гидролиза скэффолдов.....	53

2.3.9 Дифференциальная сканирующая калориметрия.....	55
2.4 Моделирование.....	55
2.4.1 Моделирование пьезоотклика ПОБ	56
2.4.2 Первопринципное моделирование	59
2.5 Выводы по главе 2.....	62
Глава 3. Исследование морфологии, химического состава и микроструктуры гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов.....	63
3.1 Морфология и распределение гибридных волокон по размеру.....	63
3.2 Микроструктура и степень кристалличности гибридных скэффолдов.....	64
3.3 Влияние ВОГ на химический и молекулярный состав ПОБ скэффолдов	67
3.4 Феноменологическая модель структурно-фазовых преобразований в электроформованных гибридных ПОБ-ВОГ микроволокнах.....	72
3.5 Влияние гидролиза на морфологию, состав и микроструктуру чистых и гибридных скэффолдов	75
3.6 Выводы по главе 3.....	80
Глава 4. Исследование физико-механических свойств, пьезоотклика и распределения поверхностного потенциала гибридных микроволокон.....	81
4.1 Механические свойства гибридных скэффолдов	81
4.2 Влияние ВОГ на поверхностный потенциал и свободную поверхностную энергию ПОБ микроволокон.....	84
4.3 Пьезоотклик гибридных микроволокон	88
4.4 Модель пьезоотклика ПОБ микроволокон на основе α -фазы	94
4.5 Влияние гидролиза на поверхностный потенциал, механические и пьезоэлектрические свойства ПОБ-ВОГ микроволокон.....	99
4.5 Выводы по главе 4.....	103
Заключение	105
Список сокращений и условных обозначений.....	107
Список используемой литературы	108

Введение

Актуальность работы. Постепенное повышение уровня и продолжительности жизни создает необходимость постоянной разработки и развития существующих технологий и материалов нового поколения для медицины. Активно ведутся исследования в области разработки биоразлагаемых и электроактивных пористых матриц для предотвращения повторного хирургического вмешательства и сокращения срока восстановления пациентов. В особенности, уделяется внимание разработке таких матриц на основе полимеров, которые позволяют обеспечить механические свойства близкие окружающим биологическим тканям. Благодаря наличию электрочувствительных тканей и клеток, электростимуляция позволяет увеличить эффективность восстановления поврежденных участков нервной, костной и других тканей. Обеспечение одновременно электростимуляции тканей и биоразлагаемости полимерных конструкций является важной научно-технической задачей. Для решения этой задачи может быть использован один из наиболее перспективных биodeградируемых полимеров поли-3-оксибутират (ПОБ), который обладает пьезоэлектрическими свойствами благодаря наличию α -фазы (сдвиговые компоненты пьезоотклика). Однако, ПОБ матрицы редко применяются для замещения и восстановления дефектов биологических тканей по сравнению материалами на основе не биodeградируемого поливинилиденфторида (ПВДФ), обладающего более высоким пьезооткликом.

Применение различных нано- и микроструктурных наполнителей на основе восстановленного оксида графена (ВОГ) позволяет усилить пьезоотклик полимеров. Добавление таких наполнителей в структуру пьезоэлектрических полимеров приводит к формированию электроактивной β -фазы, которая имеет сдвиговые и нормальные компоненты пьезоотклика, что является важным для биомедицинских применений, где имплантат может испытывать различного рода механическую деформацию.

Влияние ВОГ на структуру, физические механизмы формирования β -фазы и пьезоэлектрические свойства ПОБ полно не изучено. В настоящее время отсутствуют феноменологические модели структурообразования гибридных ПОБ матриксов, что ограничивает возможность их получения с заранее заданными свойствами. Таким образом, фундаментальное исследование структурнофазовых изменений, определяющих физико-механические и пьезоэлектрические свойства гибридных ПОБ матриксов, является важной задачей физики конденсированного состояния и биомедицинского материаловедения.

Степень разработанности темы исследования. ПОБ – один из наиболее широко известных полимеров среди природных биodeградируемых полиоксиалконоатов. Помимо высокой биосовместимости, природный ПОБ обладает сдвиговым пьезооткликом, наличие которого обусловлено антипараллельно расположенной спиральнообразной молекулярной структурой (α -фаза), которая имеет орторомбическую кристаллическую упаковку пространственной группы $P2_12_12_1$. Для данной кристаллической симметрии свойственны только сдвиговые компоненты (d_{14} , d_{25} , d_{36}) тензора пьезоотклика. Однако, последние исследования показали наличие эффективного нормального пьезоэлектрического отклика ($d_{33} \sim 2-4$ пКл/Н) нетканых волокнистых ПОБ матриксов [1, 2]. В качестве одной из возможных причин указано формирование электроактивной зигзагообразной молекулярной структуры (β -фаза). Однако, фундаментальные исследования, позволяющие установить взаимосвязь между структурой и локальными пьезоэлектрическими свойствами ПОБ матриксов, отсутствуют в литературе.

В настоящее время применение биodeградируемых ПОБ матриксов в регенеративной медицине ограничено в связи с более низкими пьезосвойствами по сравнению с другими аналогами, как не биodeградируемый ПВДФ. Один из наиболее простых и эффективных способов усиления пьезоотклика полимеров – использование наноразмерных наполнителей. Нанопластины двухмерного (2-Д) восстановленного оксида

графена (ВОГ) получили широкое применение для этой задачи благодаря его биосовместимости, уникальным физическим свойствам, высокой удельной площади поверхности и возможности ее модифицирования. Однако, влияние ВОГ на структуру, физико-механические и пьезоэлектрические свойства ПОБ матриксов не установлено в настоящее время.

Цель настоящего диссертационного исследования заключается в изучении закономерностей формирования структуры гибридных электроформованных ПОБ микроволокон, а также влияния ВОГ на механические свойства, пьезоотклик и поверхностный потенциал ПОБ скэффолдов.

В рамках поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1) Изучить влияние ВОГ на структуру и физико-механические свойства биорезорбируемых 3-Д ПОБ скэффолдов, полученных методом электроформования.

2) Установить влияние ВОГ на молекулярный состав, поверхностную энергию и поверхностный потенциал гибридных ПОБ скэффолдов.

3) Изучить локальные пьезоэлектрические свойства ПОБ микроволокон: вертикальная и латеральная компоненты пьезоотклика. Установить влияние ВОГ на эффективный локальный пьезоотклик ПОБ микроволокон.

4) Исследовать влияние деполимеризации, вызванной гидролизом, на состав и структуру гибридных ПОБ матриксов, определяющих их поверхностный потенциал, механические и пьезоэлектрические свойства.

5) Выполнить моделирование упругих свойств пьезоэлектрической α -фазы и пьезоэлектрического отклика ПОБ микроволокон с помощью первопринципного подхода (*ab initio*) и метода конечных элементов.

6) Разработать феноменологическую модель, позволяющую прогнозировать структурно-фазовые изменения в гибридных электроформованных ПОБ-ВОГ микроволокнах.

Научная новизна работы заключается в следующем:

1) Выявлено влияние ВОГ на кристаллическую структуру и молекулярный состав ПОБ микроволокон.

2) Разработана феноменологическая модель, описывающая структурно-фазовые изменения в гибридных пьезоэлектрических биоразлагаемых ПОБ-ВОГ скэффолдах.

3) Показано, что наличие полярных групп на поверхности ВОГ приводит к увеличению потенциала поверхности микроволокон и улучшению смачиваемости скэффолдов на основе ПОБ и ВОГ.

4) Впервые измерены компоненты (латеральная и вертикальная) локального эффективного пьезоотклика ПОБ микроволокон.

5) Установлено, что максимальное усиление пьезоотклика электроформованных композитных ПОБ микроволокон достигается при добавлении 0,7 мас.% ВОГ.

6) Установлен более низкий локальный вертикальный пьезоотклик по сравнению с латеральным пьезооткликом ПОБ микроволокон на основе α -фазы с помощью метода конечных элементов. Рассчитаны упругие свойства орторомбической α -фазы ПОБ пространственной группы $P2_12_12_1$ с помощью первопринципного подхода (*ab initio*).

7) Впервые изучено влияние структурно-фазовых изменений, вызванных деполимеризацией ПОБ, вследствие гидролиза на морфологию, поверхностный потенциал, пьезоэлектрические и механические свойства ПОБ-ВОГ скэффолдов.

Теоретическая значимость работы. Установлена взаимосвязь между составом, структурой и свойствами гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон. Разработана феноменологическая модель, позволяющая объяснить структурно-фазовые изменения в гибридных ПОБ-ВОГ микроволокнах,

сформированных методом электроформования. Выполнен расчет констант упругих свойств α -фазы и получены результаты моделирования пьезоотклика ПОВ микроволокон на основе α -фазы с помощью первопринципного подхода и метода конечных элементов.

Практическая значимость работы. Полученные результаты диссертационного исследования играют важную роль в области медицинской инженерии и материаловедения для разработки новых имплантатов. В результате исследования установлено, что добавление 0,7 мас.% ВОГ позволяет увеличить латеральную и вертикальную компоненты локального пьезоотклика электроформованных ПОВ микроволокон в 1,7 и 2,5 раза, соответственно. Показано, что повышение содержания ВОГ до 1,0 мас.% в гибридных ПОВ-ВОГ скэффолдах приводит к увеличению потенциала поверхности микроволокон с 33 ± 29 мВ до 314 ± 31 мВ и улучшению смачиваемости поверхности. Выявлено взаимодействие ВОГ с полимерными цепями ПОВ. Определено, что добавление ВОГ приводит к уменьшению диаметра гибридных ПОВ-ВОГ микроволокон и следующим структурно-фазовым изменениям, обуславливающим изменение физико-механических свойств: увеличение содержания аморфной фазы; снижение размеров кристаллитов сдвиговой пьезоэлектрической α -фазы (спиралевидная конформация); повышение содержания пьезоэлектрической β -фазы (зигзагообразная конформация). Изучено влияние деполимеризации ПОВ, вызванной гидролизом, на морфологию, структуру и свойства разработанных гибридных скэффолдов с улучшенным пьезооткликом.

Методология и методы исследования. Исследование распределения электрического потенциала поверхности и локальных пьезоэлектрических свойств микроволокон было выполнено с помощью сканирующей зондовой микроскопии. Для исследования изменений кристаллической структуры скэффолдов использовался метод рентгенофазового анализа (РФА). Изменения молекулярного состава в электроформованных гибридных ПОВ-ВОГ скэффолдах было установлено с помощью рентгеновской

фотоэлектронной и инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье, а также спектроскопии комбинационного рассеяния. Для изучения морфологии поверхности 3-Д волокнистых матриц использовалась растровая электронная микроскопия. Для количественной оценки содержания кристаллической и аморфной фаз в гибридных скэффолдах был использован метод дифференциальной сканирующей калориметрии. Физико-механические свойства скэффолдов были исследованы с помощью испытаний на растяжение. Смачиваемость поверхности разработанных скэффолдов определена с помощью метода сидячей капли. Расчёт поверхностной энергии (ПЭ) был выполнен с помощью метода Оунса, Вендта, Рабеля и Кьельбле. Компьютерное моделирование механических свойств и пьезоотклика α -фазы ПОБ было выполнено с помощью первопринципного подхода и метода конечных элементов, соответственно.

Положения, выносимые на защиту:

1) Увеличение содержания ВОГ в 3-Д электроформованных ПОБ скэффолдах приводит к уменьшению диаметра микроволокон и структурно-фазовым преобразованиям: увеличение содержания аморфной фазы, снижение размеров кристаллитов сдвиговой пьезоэлектрической α -фазы и повышение содержания пьезоэлектрической β -фазы. В результате происходит изменение физико-механических свойств (модуль Юнга, предел прочности на разрыв) гибридных ПОБ матриц.

2) Увеличение содержания ВОГ приводит к росту содержания полярных групп на поверхности гибридных электроформованных ПОБ-ВОГ микроволокон, что сопровождается увеличением их поверхностной энергии и потенциала.

3) Добавление 0,7 мас. % ВОГ значительно увеличивает вертикальную и латеральную компоненты (в 2,5 и 1,7 раза) локального пьезоотклика электроформованных ПОБ микроволокон. При этом дальнейший рост пьезоотклика гибридных микроволокон достигается деполимеризацией аморфной фазы полимера в результате гидролиза.

4) Феноменологическая модель объясняет структурные преобразования в электроформованных гибридных ПОБ-ВОГ микроволокнах, заключающиеся во встраивании ВОГ между ламелями (α -фаза), что приводит к снижению их размеров и формированию зигзагообразной конформации (β -фаза). Увеличение концентрации ВОГ более 0,7 мас.% в гибридных микроволокнистых ПОБ-ВОГ скэффолдах приводит к повышению содержания аморфной фазы, обусловленному сдерживанием формирования β -фазы и снижением размеров ламелей.

Достоверность результатов достигается применением общепринятых методик проведения измерений на калиброванном высокоточном оборудовании, многократным повторением экспериментов для достижения надежной статистики, детальным анализом и сопоставлением результатов с работами других авторов.

Апробация. Частично результаты исследования докладывались на различных международных и всероссийских научных конференциях для студентов и молодых ученых: International conference on «Nano-Bio-materials and their Raman characterization» (Бельгия, г. Гент, 2017 г.); XIV Международная конференция "Перспективы развития фундаментальных наук" (Россия, г. Томск, 2017 г.); XVI Российская научная студенческая конференция по физике твердого тела (Россия, г. Томск, 2018 г.), 29th annual congress of the European society for biomaterials (Нидерланды, г. Маастрихт, 2018); Biomaterials and novel technologies for healthcare: 2nd Biennial Conference BIOMAN (Италия, г. Рим, 2018 г.); UK-Russia Workshop «Prevention of microbial contamination of biomaterials for tissue regeneration and wound healing» (Великобритания, г. Ланкастер, 2018 г.); International symposium on «Energy harvesting materials and devices» (Германия, г. Кёльн, 2019 г.); International workshop «Tissue engineering therapies: from concept to clinical translation and commercialization» (Греция, о. Родос, 2019 г.); UK-Russia Workshop «Patient-tailored biomaterials for tissue regeneration, combating microbial contamination and drug delivery» (Великобритания, г. Ланкастер,

2019 г.); 10 years of G-risc and Beyond (Германия, г. Берлин, 2019 г.) Scanning Probe Microscopy; Russia-China Workshop on Dielectric and Ferroelectric Materials (Россия, г. Екатеринбург, 2019 г.); Международная научно-техническая молодежная конференция «Перспективные материалы конструкционного и функционального назначения» (Россия, г. Томск, 2020 г.); Международный конгресс «Materials science and engineering» (Германия, г. Кёльн, 2020 г.); Международная онлайн-конференция «Исследование сегнетоэлектрических материалов российскими учеными. Столетие сегнетоэлектричества» (Россия, г. Екатеринбург, 2020 г.); XXII Всероссийская конференция по физике сегнетоэлектриков (Россия, г. Екатеринбург, 2021 г.)

Публикации. Результаты диссертационного исследования Чернозем Р.В. опубликованы в виде 42 научных трудов, из которых 16 в зарубежных изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science, 2 в реферируемых журналах, входящих в перечень ВАК, и 25 в сборниках трудов различных всероссийских и международных конференций.

Личный вклад автора. Автор выполнил анализ существующих литературных данных, посвящённых получению и исследованию новых типов гибридных пьезоэлектрических материалов для регенеративной костной инженерии, постановку цели и задач диссертационного исследования, планирование и получение экспериментальных результатов, их интерпретацию и обсуждение на всероссийских и международных конференциях, написание публикаций, тезисов докладов, диссертации и положений, выносимых на защиту.

Работа выполнялась в рамках партнерского соглашения, регулирующего совместное научное руководство и присуждение кандидатской/докторской степени между Национальным исследовательским Томским политехническим университетом и Гентским университетом (Бельгия) от 21 мая 2021 г.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда № 18-73-10050 «Получение и исследование гибридных биodeградируемых скэффолдов на основе пьезополимеров и оксида графена с улучшенными электрофизическими и механическими характеристиками» (2018-2020 гг.), гранта Президента для поддержки молодых ученых кандидатов наук №МК-6459.2016.8. (Мероприятие 260.1, тема: 20.1907.2018) «Получение и исследование биodeградируемых скэффолдов для регенеративной медицины с определенным по величине и полярности поверхностным потенциалом» (2017-2018 гг.), Госзадание НАУКА 11.1233.2017/ПЧ «Исследование физических механизмов получения новых типов композитных скэффолдов с пьезоэлектрическим эффектом и поверхностным потенциалом для регенеративной медицины» (2016-2018 гг.), индивидуальный грант специального исследовательского фонда BOF16/FJD/029 для обучения по программе двойной аспирантуры в Гентском Университете (Бельгия, 2017-2021 гг.).

Объем и структура работы. Диссертационное исследование состоит из введения, 4 глав, выводов по каждой из глав, заключения и списка использованной литературы, состоящего из 176 наименований. Полный объем машинописного текста составляет – 127 страниц, включая 41 рисунков и 3 таблицы.

Благодарности. Автор диссертационного исследования выражают свою искреннюю благодарность научному руководителю д.т.н. Р.А. Сурменеву за участие в организации экспериментов, постоянную помощь в анализе результатов и подготовке диссертации; к.ф-м.н. М.А. Сурменевой за плодотворное обсуждение результатов, ценные замечания и комментарии; Ю.Р. Мухортовой, А.Ф. Анюгину, к.т.н. С.Н. Шкариной, к.ф-м.н. (PhD) И.Ю. Грубовой, П.В. Чернозем и И. Парий за помощь в получении образцов и проведении экспериментов. Коллегам Гентского Университета (Бельгия): PhD А.А. Абалымову, к.ф-м.н. Б.В. Парахонскому и проф. А.Г. Скиртачу за организацию и помощь в проведение механических испытаний и *in vitro*

тестирований. Также автор благодарен коллегам Университета Авейру (Португалия): к.ф.-м.н. А. Холкину и к.ф.-м.н. К.Н. Романюку за приглашение, помощь в проведении исследований и анализе пьезоэлектрических свойств, полученных в ТПУ гибридных матриц. Также немецким коллегам: проф. Др. Т. Баумбаху, Др. Б. Краузе, проф. Др. М. Эппле, проф. Др. М. Ульбрихту, проф. Др. С. Матуру за дружественный прием, поддержку, помощь в организации экспериментов, неоценимые замечания и комментарии анализа результатов.

Глава 1. Теоретическая часть

1.1 Регенеративная костная тканевая инженерия

Начиная со второй половины XX века, благодаря экономическому подъему, произошло увеличение продолжительности жизни населения. Вследствие этого, общество столкнулось с новыми проблемами, связанными с ростом числа заболеваний, включая остеопороз, остеомалацию, остеолит и другие виды травм ортопедического характера. До недавнего времени основным методом лечения болезней костных тканей являлось использование имплантатов. Данный подход не позволяет решить существующие проблемы полностью. В основном, это связано с негативной реакцией организма на внедрение чужеродного объекта в структуру живых костных тканей человека. Кроме того, на сегодняшний день, практически все имплантаты, используемые в лечении дефектов костных тканей, не обладают важными характеристиками, которые соответствуют свойствам живых тканей. К данным характеристикам можно отнести способность к стимулированию самовосстановления и васкуляризации, с возможностью поддержания кровообращения в месте дефекта без дополнительных хирургических вмешательств по истечению срока годности имплантата. Более того, благодаря значительному опыту последних лет, в настоящее время основной интерес представляет не только замена поврежденных тканей имплантатами, но и долгосрочное восстановление с направленной регенерацией в месте дефекта.

Существует два типа костной ткани (рисунок 1.1.1). Первый тип – губчатая кость с пористостью 50–95 %, обычно встречающаяся в кубовидных, плоских костях и на концах длинных трубчатых костей. Обладает беспорядочным расположением коллагеновых волокон и минеральных кристаллов. Поры взаимосвязаны и заполнены костным мозгом (ткань, состоящая из кровеносных сосудов, нервов и различных типов клеток, основная функция которых заключается в продуцировании основных клеток

крови). Второй тип – кортикальная или компактная кость с пористостью 5–10 % и различными типами пор. Формируется медленно, высокоорганизована и имеет параллельные слои или ламели, которые делают ее механически более устойчивой, в сравнении с губчатой костью [9].

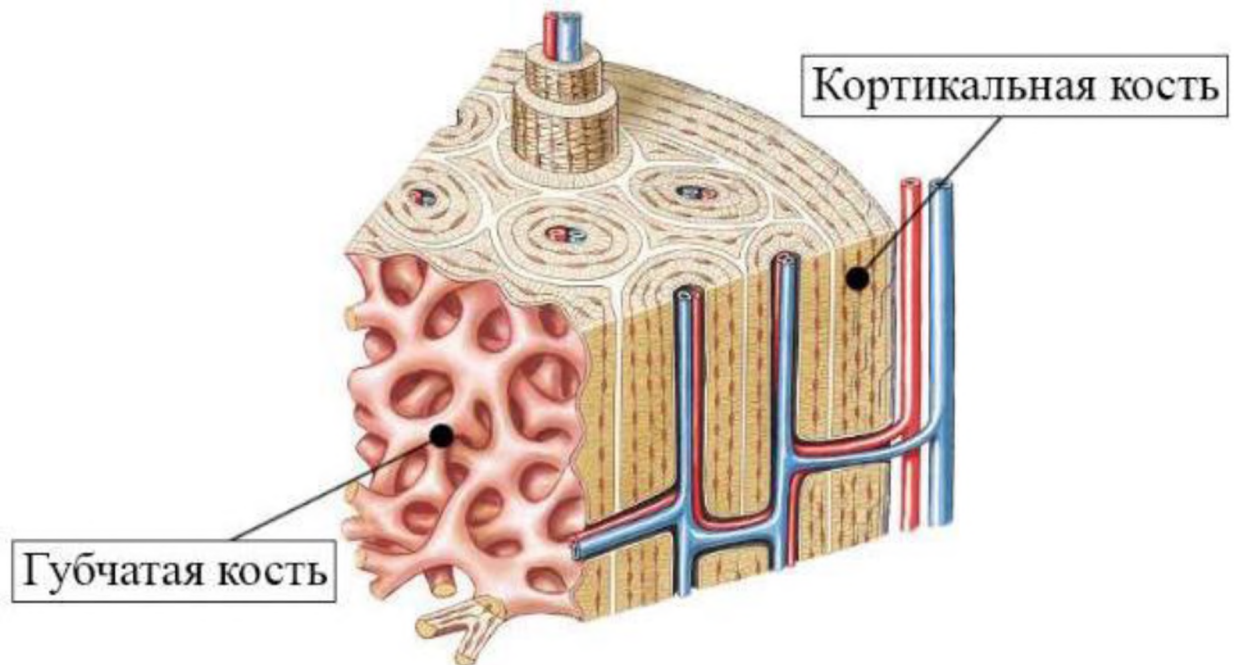


Рисунок 1.1.1 – Микроскопическая структура костной ткани

Костная ткань обладает свойством ремоделирования за счет специальных типов клеток, которые можно классифицировать по их функции, но основными являются остеобласты и остеокласты. *Остеобласты* – это дифференцированные мезенхимальные стволовые клетки (МСК), продуцирующие кость. *Остеокласты* расщепляют кость, деминерализуя ее кислотой и растворяя коллаген с ферментами.

Таким образом, для эффективно восстановления поврежденного участка костной ткани необходимо обеспечить эффективное проникновение клеток внутрь имплантируемого биоматериала, а также доставку питательных веществ, т.к. синтетическая конструкция должна обладать пористой структурой. Последнее десятилетие, благодаря бурно развивающимся направлениям генной и клеточной инженерии, а также биотехнологий, зародилась и активно развивается новая область науки – *тканевая инженерия*. Основным ориентиром тканевой инженерии является

создание биоискусственных конструкций, которые способны обеспечить, как восстановление и укрепление, так и улучшение функций поврежденных органов и тканей с частичной или полной резорбцией биоматериала, без дополнительных хирургических вмешательств. Данный вид лечения заболеваний костных тканей отличается от традиционных методов, которые основаны на использовании долгосрочных металлических имплантатов или лекарственных средств и включает в себя несколько компонентов, а именно: заимствованный у пациента клеточный материал, способный формировать действующий ВКМ; биодеградируемый скэффолд; биоактивные включения, оказывающие биостимуляцию на поврежденные клетки костной ткани [3]. В данном направлении наибольший интерес представляет создание конструкций, так называемых матриксов или скэффолдов из различных биоматериалов. Данный вид изделий должен способствовать закреплению на поверхности единичных клеток с последующей дифференцировкой в клетки костной ткани и образованием здоровой кости по мере биодеградации скэффолда [4].

1.1.1 Требования, предъявляемые к биоматериалам для инженерии костной ткани

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в области тканевой инженерии, на сегодняшний день не существует идеальной технологии создания конструкций, способствующих выращиванию новых тканей, которая бы применялась в современной медицинской практике. Для создания скэффолдов могут быть использованы различные виды материалов. Однако, жёсткие критерии выбора биоматериала для создания подобного рода конструкций создают значительные трудности. Основными требованиями к скэффолдам являются:

- биосовместимость и способность к поддержанию клеточной адгезии и пролиферации, что в свою очередь способствует межклеточному

взаимодействию и миграции клеток в течение длительного периода времени;

- способность имитировать нативный трехмерный ВКМ (эндогенное вещество, которое окружает клетки, связывая их с тканями, и обеспечивает оптимальную защитную и питательную среду), а именно обладать макропористой структурой со взаимосвязанной и развитой макропористой структурой;
- определенные механические свойства, подходящие для восстановления или замены потерянных, или поврежденных костных тканей;
- способность к биодegradации в соответствии с экспериментальными временными рамками, тем самым обеспечивая постепенное замещение биоматериала на новую ткань.

Биосовместимость – это способность материала выполнять необходимые функции, накладываемые со стороны медицинской терапии, и при этом не вызывать побочные эффекты и негативную реакцию со стороны иммунной системы. Некоторыми важными факторами, определяющими биосовместимость скэффолда являются структурно-морфологические и химические свойства, зависящие от технологических параметров процесса формирования конструкций. Скэффолды с соответствующими характеристиками – это «умные» материалы, способные имитировать ВКМ, который играет ключевую роль в архитектуре костной ткани, обеспечивая структурную поддержку и прочность. Более того, для обеспечения роста костной ткани в 3D пространстве, скэффолды должны обладать высокопористой структурой с открытой взаимосвязанной геометрией, которая обеспечит равномерное распределение клеток, а также будет способствовать неоваскуляризации конструкции. Влияние пористости и размеров пор на степень остеогенеза *in vitro* было продемонстрировано в некоторых работах, как с остеобластами, так и с недифференцированными МСК [5]. При засеивании пористых образцов первичными клеточными

линиями остеобластов крыс, наибольшее количество клеток было обнаружено в каркасах с размером пор ~ 40 мкм. Также, было установлено, что миграция клеток происходит быстрее в скэффолдах с размером пор ~ 100 мкм, однако, размер пор не повлиял на глубину проникновения клеточного материала или минерализацию.

1.1.2 Формирование синтетического внеклеточного матрикса

Как отмечалось ранее, при разработке синтетического внеклеточного матрикса для регенеративной костной инженерии необходимо учитывать не только химический состав, но и его геометрию, обладающую достаточной пористостью для обеспечения роста клеток и эффективную доставку питательных веществ к ним. Следовательно, подбор метода формирования скэффолдов играет одну из ключевых ролей при разработке будущих имплантируемых материалов. На данный момент времени существует целый ряд методов, позволяющих получать 3-Д конструкции на основе полимеров.

Сублимационная сушка – заключается в сублимации кристаллов льда из замороженной эмульсии на основе полимерного раствора и воды с помощью пониженного давления (частичный вакуум). Также выполняют вторичную сушку для удаления остатков жидкости. Данный метод позволяет получить поры размером ~ 120 мкм и общей пористостью скэффолда до 95%. Основным недостатком данного метода являются высокие затраты связанные с необходимостью создания критически низких температур [6].

Вспенивания газом – основан на создании термодинамической нестабильности при снижении окружающего давления вокруг полимера, предварительно насыщенного CO_2 под давлением. Высвобождение пузырьков CO_2 газа приводит к получению пор размером около ~ 100 мкм и общей пористостью матрикса до 93% [7]. Таким образом, данный метод позволяет избежать применения токсичных растворителей, но пористость поверхности скэффолдов существенно ограничена (70-90% пор закрытые) [8].

Выщелачивание – один из наиболее простых и распространенных методов формирования матриц, основанный на смешивании водорастворимых солей вместе с полимерным раствором в заготовленной форме с необходимой геометрией. После испарения растворителя полимера выполняется непосредственно выщелачивание солей, что в свою очередь, приводит к формированию пористой полимерной структуры. Возможен контроль пористости путем варьирования соотношения соль-полимер в смеси. Несмотря на простоту метода, кристаллическая форма солей ограничена и не позволяет существенно варьировать геометрию пор матриц. Кроме того, при изготовлении достаточно толстого полимерного матрикса не гарантируется полное выщелачивание солей из внутреннего объема, что препятствует росту клеток и эффективной доставке питательных веществ к ним [9].

3-Д прототипирование – представляет собой послойную печать матрикса с помощью специализированного принтера и компьютерной модели. В отличие от выше указанных методов, данный подход позволяет добавлять биоактивные молекулы в структуру полимера и точно контролировать топографию поверхности скэффолдов, т.е. получать различной формы и размера поры [10, 11]. К сожалению, получение очень мелкоструктурных матриц как в микро и наномасштабе ограничено низкой разрешающей способностью принтеров на данный момент.

Электроформование (ЭФ) – основан на формировании стабильной струи из капли за счет преодоления поверхностного натяжения полимерного раствора из-за возникающего дисбаланса заряда под действием внешнего электрического поля. На пути следования струи до заземленного коллектора из нее испаряется растворитель и полимер затвердевает. Параметры электроспиннинга позволяют контролировать диаметр волокон в очень широких пределах от нескольких микрон и до нанометров [11]. В свою очередь, диаметр волокон и их ориентация в пространстве, легко контролируемые с помощью параметров ЭФ и геометрии коллектора,

определяют размеры пор и общую пористость скэффолдов, т.е. возможна имитация нативного ВКМ. Кроме того, для формирования скэффолдов методом ЭФ может быть использовано большинство полимеров [12].

Таким образом, на основании данного анализа литературы в рамках данной научно-исследовательской работы был использован метод ЭФ для получения скэффолдов на основе биodeградируемого полимера с контролируемой пористостью и составом. ЭФ позволяет добавлять в структуру полимера различные добавки, как керамика, металлические наночастицы, лекарственные средства и материалы на основе графена [13, 14]. Кроме того, конструкции, полученные методом ЭФ, обладают потенциалом для использования не только в регенерации костной ткани, но и сердечно-сосудистой, кожной или нервной инженерии [13].

Согласно принципу действия ЭФ, описанному выше, полимерный раствор с помощью плунжера подается на фильеру-электрод (часто используются металлические иглы), к которой прикладывается высокое напряжение (рисунок 1.1.2.1). Предварительно в плунжер заливается полимерный раствор, который затем автоматически подается на фильеру-электрод с помощью дозатора (насоса). На конце фильеры на полимерную каплю действуют две конкурирующие силы – сила поверхностного натяжения и электростатического отталкивания. Последняя сила вызвана индуцированием электрического заряда на поверхности полимерной капли под воздействием прикладываемого электрического потенциала к фильере. В свою очередь, накопление и транспортировка заряда приводит к деформации капли, которая принимает форму конуса (конус Тейлора), когда электростатические силы преобладают. В результате их вершины конуса Тейлора образуется струя полимерного раствора, которая осаждается в твердой фазе на заземленный коллектор, формируя скэффолд. По мере дрейфа струи до коллектора из нее испаряется растворитель.

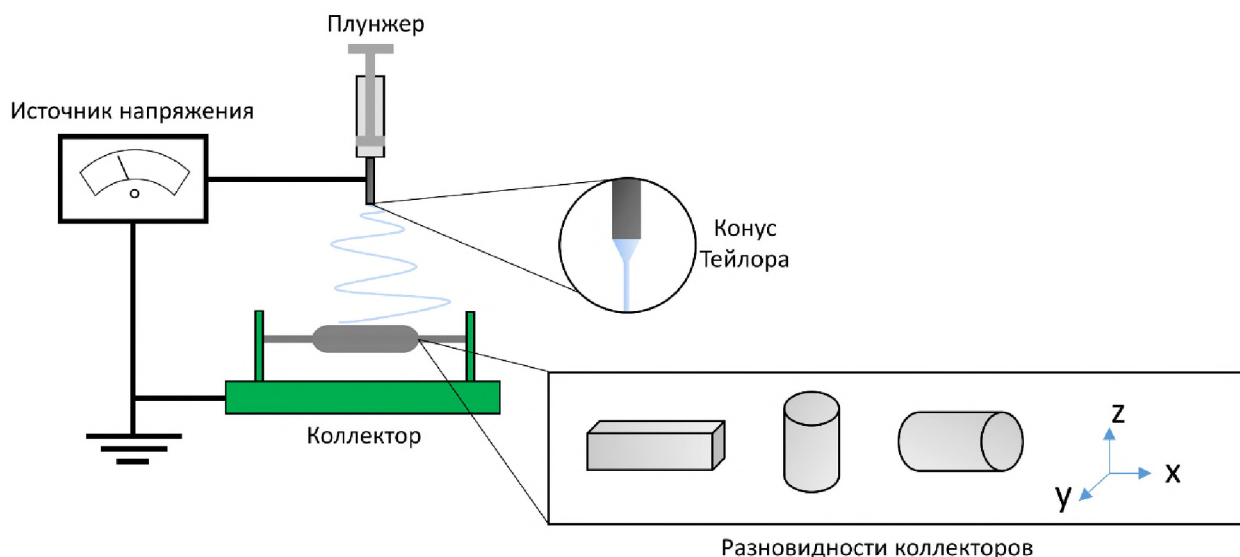


Рисунок 1.1.2.1 – Схематическое изображение установки ЭФ

Физические и геометрические характеристики волокнистых матриксов, сформированных ЭФ, зависят от следующих параметров:

- раствора;
- условий ЭФ;
- окружающей среды.

Такая характеристика раствора, как вязкость, играет важную роль при получении волокнистых скэффолдов. С одной стороны, повышение вязкости увеличивает энергетические затраты на преодоление силы трения при движении раствора по магистрали из насоса к фильеру. С другой стороны, более высокая вязкость позволяет повысить стабилизацию струи благодаря подавлению капиллярных волн. В свою очередь, вязкость полимерного раствора зависит от концентрации самого полимера в растворе, молекулярной массы раствора и плотности растворителя. Кроме того, важна величина коэффициента поверхностного натяжения для устойчивости струи. Поэтому важным является и подбор растворителя на этапе планирования экспериментов. Также следует отметить, что снижение вязкости от оптимального значения приводит к формированию дефектной волокнистой структуры в виде бусин, а ее повышение затрудняет выход раствора из фильеры [15]. Другими важными параметрами раствора являются его

электропроводность и температура кипения. Повышение электропроводности раствора позволяет снизить диаметр волокон [16], однако, это также может привести к расщеплению струи во время ЭФ, то есть снизить воспроизводимость получаемых матриксов. Термодинамические свойства раствора определяют начало и конец перехода полимерной струи из жидкой фазы в твердую.

Не менее важными являются и технологические параметры ЭФ такие, как расход раствора (скорость подачи), электрическое напряжение, прикладываемое к фильтре, расстояние между фильтром и коллектором, а также геометрия используемого коллектора (рисунок. 1.1.2.1). Как правило, увеличение напряжения приводит к уменьшению диаметра струи, а, следовательно, и волокон [17]. Однако, его чрезмерное повышение приводит к расщеплению струи, а понижение – к формированию бусиной структуры. В случае вращения коллектора, контролирование скорости вращения позволяет варьировать пористость структуры от случайно-ориентированных волокон до полностью выровненных в одном направлении, а также их диаметр [18]. Контроль расхода полимера является критичным параметром, т.к. так же влияет на конечную структуру. Верхний предел скорости подачи зависит от расстояния между электродами, т.к. при малом расстоянии (или высокой скорости подачи) полимерному раствору может не хватить времени для перехода из жидкой в твердую фазу в следствии испарения растворителя, следовательно, получится дефектная структура волокон. Нижний предел расхода полимера определяется стабильностью подачи полимерного раствора к фильтру.

Такие параметры окружающей среды, как влажность и температура, влияют на диаметр волокон скэффолда. Например, авторы работы [19] экспериментально доказали, что повышение температуры приводит к утончению волокон. А низкая влажность способствует увеличению скорости испарения растворителя, т.е. увеличивает вязкость полимерного раствора [20].

1.2 Биомедицинское применение пьезоэлектрических материалов

Рост интереса к применению пьезоэлектрических материалов в тканевой инженерии обусловлен из-за их потенциала к обеспечению электростимуляции клеток, которая позволяет ускорить восстановление поврежденного участка ткани или добиться необходимой клеточной реакции [21]. Кроме того, в живых организмах, включая человеческий (рисунок 1.2.1), существует большое количество электровозбуждаемых тканей и клеток, а также пьезоэлектрических материалов (например, коллаген) [22].



Рисунок 1.2.1 – Изображение пьезоэлектрических и электрочувствительных тканей в человеческом организме

Помимо тканевой инженерии и имплантации, также увеличивается интерес со стороны научного сообщества к применению пьезоэлектрических материалов в качестве биосенсоров, как внешних, так и внутренних. Применение данных биосенсоров успешно продемонстрировано для детектирования физиологических биоритмов (пульс, дыхание и т.д.) и анализа состава мочи/крови [23, 24]. Кроме того, внешние сенсоры могут иметь двойное назначение, а именно для генерации побочной электроэнергии вследствие человеческой активности [23]. Эта энергия может быть использована, например, для зарядки персональных устройств, как смартфоны, часы или планшеты.

1.2.1 Пьезоэлектрический эффект

Во внешнем электрическом поле в диэлектрических материалах наблюдаются различные электромеханические эффекты, такие как деформация кристаллов в приложенном электрическом поле. Физической причиной сопровождения электрической поляризации механическими эффектами являются микроскопические смещения электрических зарядов под действием электрического поля [25].

Характер данных электромеханических эффектов определяется симметрией кристаллической структуры диэлектрика. В centrosymmetric структуре вид деформации (сжатие или растяжение) не зависит от электрической поляризации во внешнем поле. Данный эффект называется электрострикцией, которая характерна для всех диэлектрических материалов без исключений. Однако, данный эффект является слабовыраженным, т.е. его вклад в деформацию весьма мал. Тогда как нецентросимметричные диэлектрические структуры обладают значительно более выраженным эффектом – пьезоэлектричеством.

Впервые пьезоэлектрический эффект при деформации нецентросимметричных диэлектриков наблюдали братья Кюри в 1880-1881 гг., который получил название «прямой» [26]. Прямой пьезоэффект можно представить следующим образом: вследствие упругой деформации x , вызванной прикладываемым механическим напряжением X , в пьезоэлектриках возникает электрическая поляризация P (рисунок 1.2.1.1 а-в). Поляризация выражается плотностью механически индуцированных зарядов на поверхности деформированной кристаллической структуры пьезоэлектрика. Изменение направления деформации приводит к изменению направления поляризации P (рисунок 1.2.1.1б-в), а при снятии механической нагрузки поляризация ($P=0$) исчезает (рисунок 1.2.1.1а) [27].

В свою очередь, обратный пьезоэлектрический эффект заключается в деформации пьезоэлектрика помещенного во внешнее электрическое поле

(рисунок 1.2.1.1 г-е). Вид деформации в пьезоэлектрических материалах зависит от полярности внешнего электрического поля (рисунок 1.2.1.1 д-е).

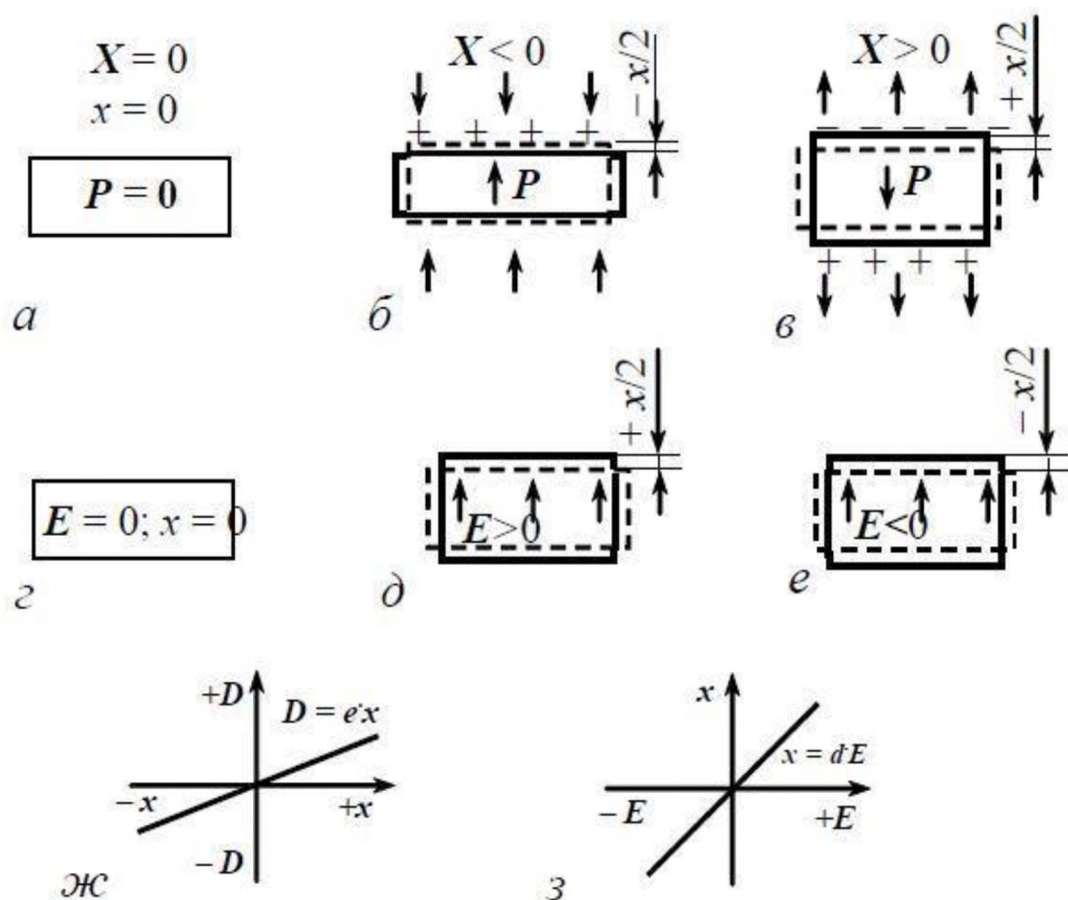


Рисунок 1.2.1.1 – Схематическое представление (а-в, ж) прямого и (г-е, з) обратного пьезоэлектрических эффектов [27]

Таким образом, пьезоэлектрические материалы способны преобразовывать электрическую энергию в механическую («обратный») и наоборот («прямой»). При изменении направления механической деформации (растяжение или сжатие) пьезоэлектрических материалов изменяется знак электрической поляризации. Также величина поляризованности пьезоэлектрика прямо пропорциональна величине деформации (рисунок 1.2.1.1ж). Кроме того, при обратном пьезоэлектрическом эффекте величина деформации линейной изменяется в зависимости от величины прикладываемого внешнего электрического поля (рисунок 1.2.1.1з). Тогда как электрострикция не способна преобразовывать

механическую энергию в электрическую и изменять характер деформации (сжатия на растяжение и наоборот) в зависимости от полярности внешнего поля [27].

Ключевым условием наблюдения пьезоэлектрического эффекта в диэлектриках является нецентросимметричная кристаллическая структура. Потому что в случае центросимметричного диэлектрика смещение ионов относительно положений равновесия под действием механической деформации приведет к компенсации электрических дипольных моментов и, как следствие, отсутствию поляризации.

1.2.2 Электромеханические характеристики пьезоэлектрических материалов

Биосенсинг и регенерация тканей могут быть достигнуты путем преобразования механических сигналов в электрические с использованием пьезоэлектрических материалов [1]. По сравнению с пьезоэлектрической керамикой полимеры обладают такими преимуществами, как высокой гибкости и низкого акустического сопротивления, что делает их конкурентоспособными для механического восприятия в органических средах [28].

Природное явление пьезоэлектрического эффекта наблюдается в анизотропных диэлектриках, в большинстве материалов, обладающих нецентросимметричной кристаллической структурой. Деформация такой структуры кристалла приводит к появлению поляризации. Появление поляризации в диэлектрике под действием механических напряжений называется прямым пьезоэлектрическим эффектом, то есть происходит смещение заряженных частиц под действием механических напряжений, в результате чего возникает дипольный момент [29]. Пьезоэффект обратим, то есть при воздействии электрического поля на диэлектрик появляется механическая деформация. Такой эффект называется обратным пьезоэлектрическим эффектом. Пьезоэлектрический эффект (прямой (1.2.2.1)

и обратный (1.2.2.2)) имеет линейную зависимость, описание которой можно представить с использованием следующих выражений:

$$P = dT \quad (1.2.2.1)$$

$$S = dE, \quad (1.2.2.2)$$

где P – электрическая поляризация, T – механическое напряжение, S – деформация; E – напряженность электрического поля. Количественно пьезоэффект в материале можно оценить с помощью коэффициента пропорциональности d , называемый пьезоэлектрическим модулем (пьезомодулем (1.2.2.3 и (1.2.2.4)). **Пьезоэлектрический модуль d** прямого пьезоэффекта – это отношение индуцированного электрического заряда, возникающего на пьезоэлементе, к вызывающей его деформацию силе [Кл/Н], которое может быть определено по формуле:

$$d = \frac{Q}{F} \quad (1.2.2.3)$$

где Q – электрический заряд [Кл]; F – сила [Н], приложенная к поверхности.

В случае обратного пьезоэффекта **пьезоэлектрический модуль d** рассчитывается как отношение механической деформации пьезоэлемента, возникающей под действием приложенного электрического поля [м/В] [30]:

$$d = \frac{S}{E} \quad (1.2.2.4)$$

где S – механическая деформация (упругая деформация) [м/м]; E – напряженность электрического поля [В/м]. Пьезомодуль d для прямого и обратного эффектов имеет одно и то же значение [31].

Выражения ((1.2.2.1) и (1.2.2.2)) приведены как элементарная форма качественной стороны пьезоэлектрических явлений. На самом деле такие явления в кристаллах более сложные из-за анизотропии их упругих и электрических свойств. Кроме того, пьезоэффект зависит от характера и направления механических или электрических сил относительно кристаллографических осей кристалла [32]. Так, матрица пьезомодулей имеет размерность 3×6 . Например, индекс «33» означает, что вектора поляризации и механической деформации сонаправлены. Индекс «31»

означает, что давление прикладывается под прямым углом к оси поляризации, при этом изменение электрического потенциала поверхности детектируется на тех же самых плоскостях пьезоэлектрического материала, что и в случае «33». Индекс «15» подразумевает, что приложенное напряжение является сдвиговым, и результирующее электрическое поле перпендикулярно к оси поляризации [30].

Пьезоэлектрический потенциал диэлектрика (пьезоэлектрика) может быть рассчитан с помощью формулы (1.2.2.5) для напряжения разомкнутой цепи, V_{oc} [28]:

$$V_{oc} = \frac{Q}{C} = \left(\frac{d_{33}}{\varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r} \right) \cdot \sigma \cdot Y \cdot h = \left(\frac{d_{33}}{\varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r} \right) \cdot h \cdot \frac{\Delta F}{A} = g_{33} \cdot h \cdot \Delta p, \quad (1.2.2.5)$$

где h – толщина; A – площадь поверхности; ε_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума; ε_r – относительная диэлектрическая проницаемость; Δp – изменение прикладываемого давления; Y – модуль Юнга; g_{33} – пьезоэлектрический коэффициент механического напряжения.

1.3 Полиоксиданканоаты и поли-3-оксибутират

В настоящий момент времени, во избежание повторного хирургического вмешательства и сокращения срока восстановления пациентов активно разрабатываются и исследуются различные *биоразлагаемые* материалы. В частности, материалы на основе *полимеров*, которые можно модифицировать, и тем самым контролировать их морфологию, химические и механические свойства, обеспечивая необходимые свойства для окружающих тканей в месте их будущего имплантирования и скорость *биоразложения* [33]. ПОА – класс хорошо изученных биоразлагаемых полиэфигов, которые являются биосовместимыми и можно получать путем бактериального биосинтеза (рисунок 1.3.1), т.е. экологически чистый и воспроизводимый источник.

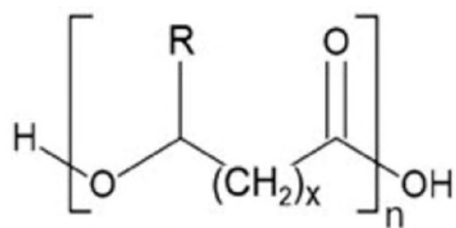


Рисунок 1.3.1 – Общая структурная формула ПОА

Благодаря данным свойствам ПОА получили широкое распространение в медицинских целях с 70-х гг. прошлого века. Так уже в 1974 г на рынке медицинских изделий впервые появились биodeградируемые шовные нити марки «Викрил» на основе синтетического ПОА. На данный момент времени большое количество различных биосовместимых биоразлагаемых изделий медицинского назначения, изготовленных из природных и синтетических ПОА, уже используются или находятся на стадии разработки: шовные нити, скрепки, мембраны, хирургические эндопротезы, винты, штифты, пластины, шовные нити, кардиоваскулярные стенты-эндопротезов, протезы сосудов и т.д. (рисунок 1.3.2) [34].

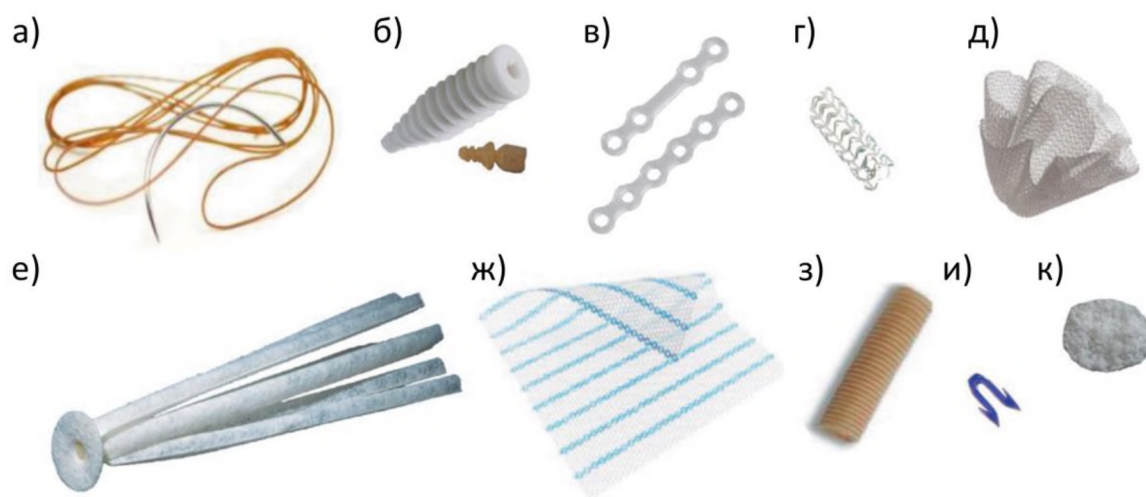


Рисунок 1.3.2 – Биорезорбируемые изделия на основе ПОА, применяемые в медицинской практике или разрабатываемых: а) шовные нити на основе поли-2-оксиуксусной кислоты (ПГК) (Ethicon, Johnson & Johnson, США); б) – шурупы из поли-2-оксипропановой кислоты (ПМК) с пластификатором для фиксации костной ткани (Biomatlante, Франция); в) пластины на основе полимолочной-со-гликолевой кислоты для фиксации костей (Biomet, США);

г) кардиоваскулярный эндопротез из ПМК (Abbott, США); д) тканый эндопротез на основе поли-4-оксимасляной кислоты для герниопластики (C.R. Bard Inc., США); е) эндопротез основе ПМК для колопроктологии (W. L. Gore & Associates Inc., США); ж) частично биорезорбируемый сетчатый эндопротез из тканых монофиламентных нитей на основе полипропилена и полимолочной-со-гликолевой кислоты (Ethicon, Johnson & Johnson, США); з) эндопротез на основе ПГК для сращивания нервов (Synovis Micro Companies Alliance, США); и) скрепка из ПМК для сшивания кожи и мягких тканей с помощью степлера (Ethicon, Johnson & Johnson, США); к) мембрана на основе поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерата (ПОБВ) для замещения дефектов мягких и хрящевых тканей (АО «БИОМИР сервис», г.

Краснознаменск, Московская область, РФ) [34]

Как видно из представленных выше вариаций медицинских изделий, для их изготовления в основном используются синтетические ПОА (сПОА) такие, как ПМК, ПГК и т.д. Это связано с появлением более ранней возможности их масштабного химического синтеза сПОА и сертификацией на основании доклинических и клинических испытаний (в 70-х и 80-х гг. 20-го века). Важную роль в их широком медицинском применении сыграла изваряемая скорость деградации в человеческих тканях [35-37]. Зачастую сПОА причисляют к биополимерам из-за их способности к биоразложению. Однако, это не совсем корректно, так как классификация биополимеров основана на продуктах жизнедеятельности организмов (т.е. молекулы природного происхождения), например, бактерий, грибов, растений и т.д. [38]. Тогда так сПОА в природе не встречаются [35].

Среди природных ПОА (пПОА) наиболее широко известен поли-3-оксибутират (ПОБ), который является линейным полиэфиром R-формы оксимасляной кислоты (рисунок 1.3.3). Кроме того, при биосинтезе пПОА в бактериях может образовываться не чистый ПОБ, а длинноцепочечные мономеры (сополимеры), свойства которых сильно отличаются от ПОБ [34].

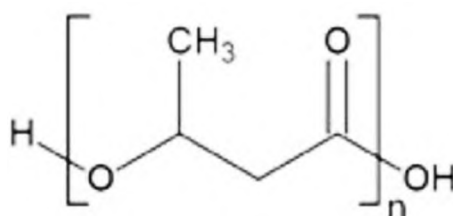


Рисунок 1.3.3 – Структурная формула природного ПОБ

В основном сПОА и пПОА (ПОБ) обладают высокой биосовместимостью по сравнению с другими полимерами и подходят для применения в качестве имплантируемых материалов [34]. Однако, сравнение биологической реакции сПОА и пПОА показывает, что ПОБ вызывает умеренную тканевую реакцию [39, 40], тогда как синтетическая полимолочная кислота может вызывать выраженный хронический воспалительный процесс [41]. Например, многие работы доклинических испытаний ПОБ и его сополимеров путем подкожной имплантации показывают не большое количество лимфоцитов (Т-лимфоцитов) или их отсутствие, в свою очередь, демонстрируя отсутствие иммунотоксичности [42-44]. Кроме того, бездефектные искусственные ВКМ на основе ПОБ могут быть получены с помощью ЭФ [45-47].

1.3.1 Кристаллическая структура поли-3-оксибутирата

Помимо явного преимущества ПОБ по сравнению сПОА в иммунной реакции и возможности получения пористых матриц на его основе, что является обязательным требованием костной инженерии, ПОБ обладает еще одним важным свойством, которое последнее время привлекает особое внимание ученых для ускорения восстановления поврежденной костной ткани – электромеханическая стимуляция (пьезоэлектрический эффект). Ключевым условием наличия пьезоэлектрического эффекта в диэлектриках является нецентросимметричная кристаллическая решетка.

Материалы и конструкции на основе природного ПОБ, как правило, обладают полукристаллической структурой [48]. На рисунке 1.3.1.1а представлено схематическое изображение микроструктуры ПОБ. В структуре

ПОБ кристаллы, которые обычно представляют собой α -фазу (спиралевидная молекулярная структура), «сшиты» между собой не кристаллическими молекулярными цепями (рисунок 1.3.1.1а). Помимо α -фазы и аморфной составляющей, последние исследования показывают, что при определенных технологических условиях происходит формирование другой фазы ПОБ, которая имеет зигзагообразную молекулярную цепочку (β -фазы) [49].

α -фаза существует в крупных кристаллитах и может быть получена в стандартных условиях, например, как высокотемпературная, низкотемпературная или растворная кристаллизация. Представляет собой фазу с двумя левосторонними спиральными молекулами, расположенными антипараллельно. Элементарная ячейка α -формы имеет орторомбический тип с $a = 5,73 \pm 0,01 \text{ \AA}$, $b = 13,15 \pm 0,02 \text{ \AA}$, а c (ось молекулярной цепи) = $5,93 \pm 0,01 \text{ \AA}$. Пространственная группа с видом симметрии $P2_12_12_1-D_2^4$ [50]. Как правило, толщина кристаллов α -фазы ПОБ (рисунок 1.3.1.1б) в среднем составляет 5-6 нм [51], но может достигать и до 10 нм [52]. В длину кристаллы α -фазы ПОБ могут расти до 2 мкм и до 10 мкм вдоль короткой и длинной осей, соответственно.

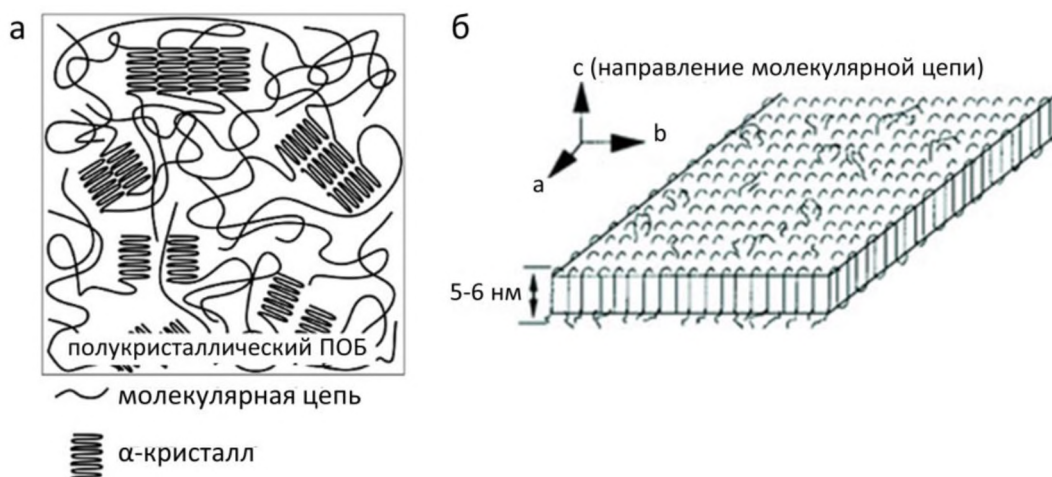


Рисунок 1.3.1.1 – (а) Схематическое изображение микроструктуры ПОБ [53].

(б) Схематическая модель упаковки молекулярной цепи одиночных α -кристаллов ПОБ [51]

β -фаза имеет вид растянутой зигзагообразной молекулярной цепи. β -фаза формируется между парными ламелями (α -фаза) путем приложения

растягивающей силы к ориентированной α -фазе (рисунок 1.3.2). Все зигзагообразные цепи упакованы в шестиугольную (гексагональную) элементарную ячейку $a = b = 9.22 \text{ \AA}$, c (ось цепи) = 4.66 \AA и $\gamma = 120^\circ$ [49]. Молекулярные диполи в β -фазе таким образом полностью выровнены в одном направлении.

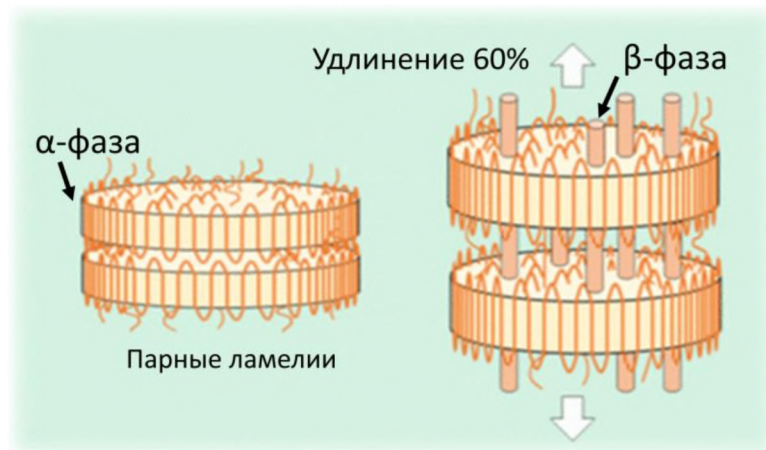


Рисунок 1.3.1.2 – Схематическое изображение формирования β -фазы между парными ламелями (α -фазы) в ПОб пленках при растяжении на 60% [49]

1.3.2 Пьезоэлектрические свойства поли-3-оксибутирата

Впервые пьезоэлектрический сдвиговой (d_{14}) коэффициент ПОб, близкий к различным полисахаридам или белкам [22], были продемонстрированы Фукадой в 1986 году [54]. Сдвиговая природа пьезоэлектрического эффекта ПОб обусловлена наличием орторомбической кристаллической симметрии D_2 , в которой спирально-видные молекулы (α -фазы) расположены антипараллельно [55]. Данные орторомбические кристаллы ПОб обладают $P2_12_12_1$ пространственной группой (рисунок 1.3.2.1a) [2], т.е. демонстрируют только сдвиговые пьезоэлектрические коэффициенты (d_{14} , d_{25} , d_{36}) [56].

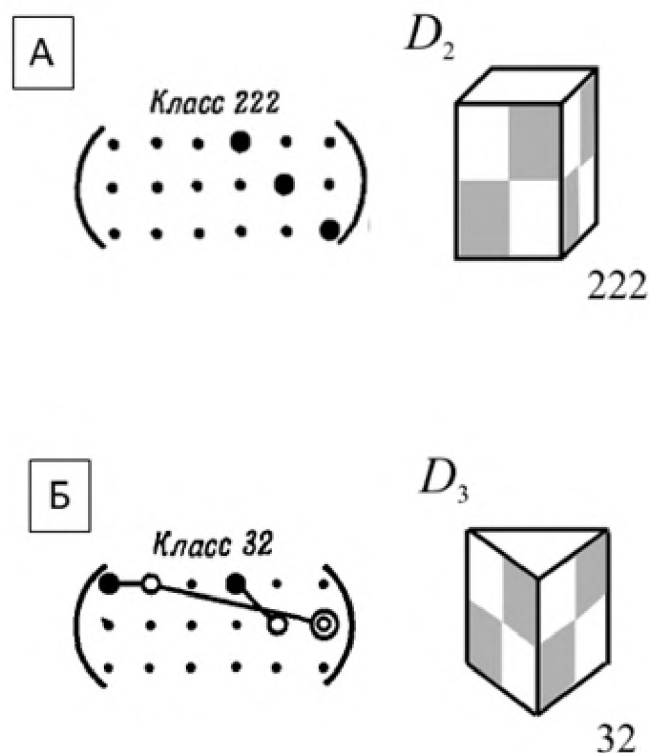


Рисунок 1.1.2.1 – Пространственные группы материала ПОБ для: а) α -фазы б) β -фазы [57, 58]

Согласно последним исследованиям материалы и конструкции на основе ПОБ также способны иметь зигзагообразную молекулярную упаковку (β -фазы), которая имеет гексагональную кристаллическую структуру симметрии класса 32 (тригональная система) с пространственной группой $P3_221$ (рисунок 1.3.2.1б) [49]. Для данной симметрии характерны как сдвиговые, так и равные по значению пьезоэлектрические тензоры на сжатие/растяжение и изгиб (d_{11} и d_{12}) [56]. Кроме того, в случае появления дефектов данная тригональная система может переходить из класса 32 в класс 3 [59], для которого уже характерны проявление пьезоэлектрического тензора на сжатие/растяжение и изгиба в продольном, поперечном и вертикальном направлениях (т.е. d_{11} , d_{22} , d_{33} и т.д.) [56]. Так, недавно, эффективные пьезоэлектрические коэффициенты d_{33} и d_{31} были измерены со всей поверхности (макромасштабные измерения) волокнистых скэффолдов на основе чистого ПОБ и с различными нанополлерами [1, 2]. С учетом отсутствия фундаментального анализа доменной структуры ПОБ,

специфичной геометрии эксперимента и самих скэффолдов в данных работах пьезоэлектрические тензоры d_{11} и d_{12} могли быть восприняты как d_{31} и d_{33} . Таким образом, видно, что доменная структура, а, следовательно, и пьезоэлектрические свойства ПОБ полимеров слабо изучены и требуется фундаментальное их исследование.

Сдвиговый пьезоэлектрический коэффициент d_{14} ПОБ имеет близкое значения к коллагену и превосходящие к костной ткани (таблица 1.3.2.1). Однако, ПОБ обладает значительно более низкими пьезоэлектрическими свойствами по сравнению с не биоразлагаемыми полимерами, например, поливинилиденфторид (ПВДФ) и сополимеров на его основе [22], что ограничивает возможность исследования влияния их пьезоэлектрического эффекта на биологические процессы и успешного биомедицинского применения. Тогда как полимеры с более сильными пьезоэлектрическими свойствами демонстрируют более высокую скорость пролиферации клеток [60]. Следовательно, задача увеличения пьезоэлектрического отклика ПОБ является актуальной.

Таблица 1.3.2.1. Пьезоэлектрические характеристики тканей организма и пьезоэлектрических полимеров.

Материал	Пьезоэлектрический коэффициент, пКл/Н	Источник
Костная ткань	$d_{15} = 0,1-0,3$	[61]
Коллаген	$d_{15} = 2$	[62]
Полимолочная кислота	$d_{14} = -9,8$	[63]
ПОБ	$d_{14} = -1,4-2,0$	[54, 64]
Поливинилиденфторид (ПВДФ)	$d_{33} = -24-34$	[65, 66]
Поли(винилиденфторид- трифторэтилен)	$d_{33} = -38$	[66]
Полиамид-11	$d_{33} = -4$	[67]

Таким образом, необходимо как фундаментальное исследование кристаллической структуры и пьезоэлектрических свойств, так и их значительное улучшение для успешного применения в ПОБ регенеративной медицине.

1.4 Графен и материалы на его основе в медицине

Благодаря sp^2 -гибридизации, синтез двухмерного (2-Д) слоя атомов углерода, собранного в гексагональной упаковке (рисунок 1.4.1), привлекло огромное внимание инженеров и ученых из различных областей науки и техники. Данный материал демонстрирует уникальные кристаллические и электронные свойства, вызванные уникальной природой его носителей заряда, которые ведут себя подобно релятивистским частицам [68]. Кроме того, удивительные физические и химические свойства предоставляют большое множество применений графена материалов на его основе в различных областях науки и техники, в особенности, в медицине [31].

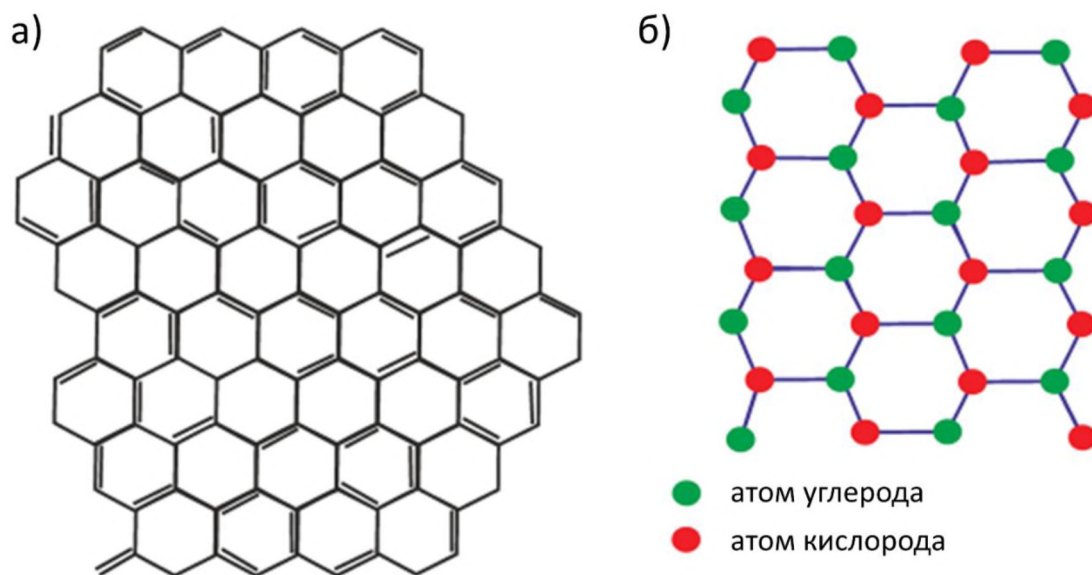


Рисунок 1.4.1 – (а) Общая молекулярная и (б) кристаллическая структуры материалов на основе 2-Д графена

2-Д материалы на основе оксида графена в первую очередь нашли применение в разработке нового медицинского оборудования благодаря своим уникальным свойствам. На данный момент уже имеются

разработанные на основе графена различные прототипы электронных и оптоэлектронных приборов таких, как газовые сенсоры, транзисторы, жидкокристаллические дисплеи, графеновые выпрямители, солнечные батареи и высокочувствительные фотодетекторы [31].

Однако, относительно недавно материалы на основе графена начали применять в новой области – биомедицина, т.е. инвазивное применение. Графен и материалы на его основе такие, как оксид графена и восстановленный оксид графена, считаются биосовместимыми и получили широкое распространение в различных областях биомедицины, например, доставка лекарств, биосенсинг, визуализация, доставка лекарств и генов, и т.д. (рисунок 1.4.2) [69]. Например, иммобилизованная лакказа (фермент) на поверхности оксида графена демонстрирует более высокую термическую стабильность и стойкость в кислотной среде [70]. Или показано, что в раковых клетках оксид графена вызывает ответы Толл-подобных рецепторов, которые могут вызывать аутофагию и противоопухолевые эффекты [71].



Рисунок 1.4.2 – Области применения графена и материалов на его основе [69]

Особый интерес в рамках костной инженерии, графен и материалы на его основе представляют в виде нанодобавок в композиты с целью

улучшения их биоактивности. Авторы работы [72] показали, что добавки графена позволяют стимулировать дифференциацию стволовых клеток в костные. Более того, добавления графена и материалов на его основе позволяют улучшить механические и остеогенные свойства композита, определяющие его успешное применение в костной имплантологии [69, 73]. Также покрытия на основе оксида графена позволяют повысить устойчивость биокомпозита к коррозии [74]. Биорезорбция полимеров, используемых в данной работе, может вызывать локальное снижение pH (повышение кислотности), которое в свою очередь пагубно сказывается на жизнеспособности клеток [75, 76]. В свою очередь, добавка графен-содержащих материалов в композиты с полимерами позволяет избежать данного эффекта [69].

1.4.1 Восстановленный оксид графена

По сравнению с чистым графеном (рисунок 1.4.1.1), восстановленный оксид графена (ВОГ) благодаря своей химической структуре (наличие кислородсодержащих групп) может быть более эффективно использован в таких биомедицинских приложениях, как доставка лекарств и биофункционализация белков (рисунок 1.4.1).

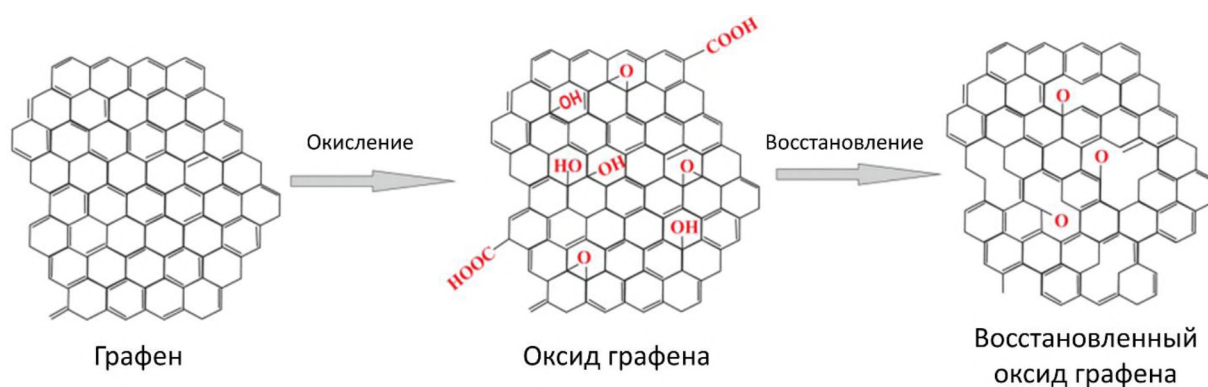


Рисунок 1.4.1.1 – Схематическое представление получения ВОГ

По сравнению с оксидом графена, ВОГ является более легким материалом, обладающим более близкими механическими свойствами к костной ткани [77-79], а также более высокой электропроводностью и

термической стабильностью [80, 81]. Данные свойства ВОГ делают одним из наиболее привлекательным из семейства графен-содержащих материалов для биомедицины. ВОГ получается из диэлектрического оксида графена путем снижения кислородсодержащих групп с помощью термических, фототермических, химических, микроволновых и бактериальных методов (рисунок 1.4.1.1) [69].

1.4.2 Влияние ВОГ на пьезоэлектрические свойства полимера

Согласно требованиям, предъявляемым к биоматериалам в костной регенеративной инженерии, ВОГ является биосовместимой материалом, который может быть эффективно использован в композитах для усиления их механических свойств и остеогенеза. Кроме того, в случае полимеров, как ПОБ и ПОА, ВОГ может играть критическую роль в препятствовании снижению pH, вызванному их биорезорбцией. Помимо этого, при разработке полимерных матриц важно понимать влияние ВОГ на их пьезоэлектрические свойства. Как отмечалось выше, в частности, улучшение пьезоэлектрических свойств ПОБ является актуальным согласно последним биомедицинским результатам применения пьезоэлектриков в костной инженерии.

Исследований, показывающих и объясняющих влияние ВОГ на пьезоэлектрические свойства ПОБ, не опубликовано. Однако, существует большое множество работ, показывающих влияние ВОГ на пьезоэлектрический отклик других полимеров, например, не биорезорбируемом поливинилденфториде (ПВДФ) и сополимерах на его основе.

В качестве одного из наиболее эффективных методов увеличения пьезоэлектрических свойств полимеров является добавление различных нанополлимеров. Сегнетоэлектрическая или пьезоэлектрическая наноструктурная керамика позволяет усилить в несколько раз пьезоэлектрический отклик полимеров [23]. Однако, возможно применения

данной керамики ограничено в ряде биомедицинских приложений в связи с ее хрупкостью, подверженности коррозии или даже токсичность, например, в случае цирконата-титаната свинца [82].

В то время как, наноразмерные 2-Д материалы на основе углерода, как восстановленный оксид графена (ВГО), благодаря своей структуре обладают большой удельной площадью поверхности, варьируемыми в широких пределах механическими, физическими и химическими свойствами [83]. Также ВГО является биосовместимым материалом, поверхность которого можно модифицировать [84]. Авторы в работе [85] показали увеличение пьезоэлектрического потенциала, генерируемого деформацией ПВДФ пленки, на 293% после добавления ВОГ с концентрацией 0,05 мас.%, т.е. пьезоэлектрический отклик ПВДФ был улучшен практически в 3 раза [85]. В другой работе сообщается идентичный эффект, но максимальное увеличение деформации ПВДФ пленки во внешнем электрическом поле (обратный пьезоэлектрический эффект) наблюдался при концентрации ВОГ 0,3 мас%, а дальнейшее увеличение содержания ВОГ привело к снижению пьезоэлектрического отклика [86]. В качестве основных механизмов увеличения пьезоэлектрических свойств ПВДФ после добавления ВОГ можно выделить следующие:

- увеличение содержания электромеханически активной β -фазы ПВДФ, обусловленной формированием связей между атомами фтора с кислородсодержащими группами на поверхности ВОГ (центр кристаллизации);
- образование микро-конденсаторов, вызывающих повышение диэлектрических свойств пьезоэлектрика.

Кроме выше указанных причин, увеличения пьезоэлектрических свойств, также может быть обусловлено изменением механических свойств ПВДФ после добавления ВОГ. Модуль Юнга пьезоматериала влияет на его пьезоэлектрические константы и генерируемый пьезоэлектрический потенциал [87].

Глава 2. Экспериментальная часть. Материалы и методы исследования

2.1 Используемые материалы и реактивы

Для формирования полимерных микроволокон использовали порошок природного ПОб (nature origin, Sigma-Aldrich, Германия), который растворялся в химически чистом трихлорметане (EKOS-1, Россия). В качестве нанонаполнителей использовались 2-Д нанопластины ВОГ, синтезированного модифицированным методом Хаммерса [88]. 2-Д ВОГ был получен в Университете Кёльна (г. Кёльн, Германия) [28].

Для синтеза ВОГ использовалась смесь растворов H_2SO_4/H_3PO_4 (х.ч. > 99 %, Sigma-Aldrich, Германия) в соотношении 360/40 мл (9/1). В свою очередь, в полученный раствор добавлялось 3 г графитовых хлопьев (Sigma-Aldrich, Германия) и 18 г $KMnO_4$ (х.ч. > 99 %, Sigma-Aldrich, Германия). Полученная смесь перемешивалась в течение 12 часов при температуре $50^\circ C$, которая затем охлаждалась до комнатной температуры с помощью 400 мл льда. После этого в полученную гомогенную смесь добавляли 30% раствор перекиси водорода (30 мас.% в воде, Sigma-Aldrich, Германия), который приводил к изменению цвета смеси на коричневый. Изменившуюся в цвете смесь помещали в центрифугу при скорости вращения 4500 об/мин в течение 15 мин. Осажденную твердую фазу на дне пробирок последовательно промывали в деионизованной воде, 30% соляной кислоте (30 мас.% в воде, Merck KGaA, Germany), этаноле (х.ч. > 99 %, Sigma-Aldrich, Германия) и сушили в вакуумной печи в течение ночи при комнатной температуре. Для получения ВОГ высушенный оксид графена отжигали в печи в атмосфере Ar/H_2 (95/5) при температуре $800^\circ C$. Успешное формирование нанопластинок ВОГ подтверждалось с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния света, которая выявляла два типичных пика, соответствующих *G* и *D* связям [28].

С целью исследования влияния концентрации ВОГ на морфологию, микроструктуру и физические свойства ПОб микроволокон были

подготовлены композитные смеси на основе 5 мас.% полимерных растворов. На основании литературного обзора, демонстрирующего достижения максимального эффекта увеличения пьезоотклика полимеров при концентрации ВОГ не превышающей 1 мас.% (см. раздел 1.4.2), были выбраны следующие концентрации ВОГ от общей массы полимера: 0,2, 0,7 и 1 мас.%. Растворение ПОБ и диспергирование нанопластинок ВОГ в нем осуществлялось одновременно в течение 4 часов с помощью ультразвуковой ванны (35 кГц, УЗВ-0,8 Сапфир). Полученный чистый и композитный ПОБ раствор использовались в дальнейшем для формирования скэффолдов с микроволокнистой структурой, имитирующей внеклеточный матрикс, для восстановления костных дефектов.

2.2 Установка электроформования и параметры получения скэффолдов

Внеклеточные матриксы на основе ПОБ и ВОГ в данной работе были получены методом ЭФ с помощью установки, разработанной на базе национального исследовательского Томского политехнического университета (Россия). Блок-схема данной установки представлена на рисунке 2.2.1.

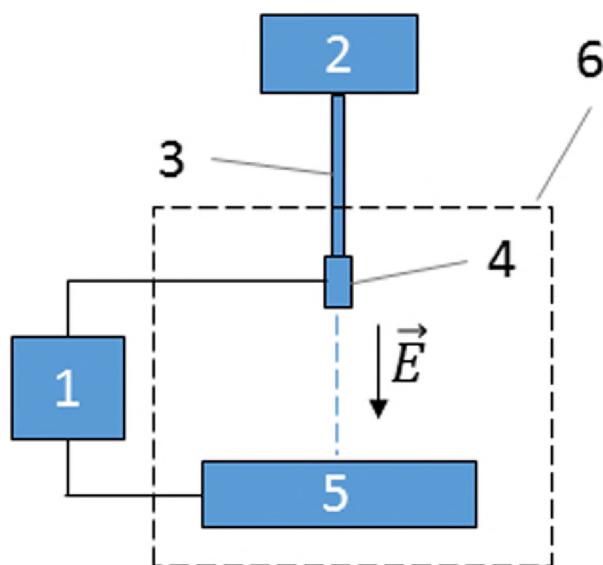


Рисунок 2.2.1 – Блок-схема используемой установки для ЭФ: 1 – источник питания; 2 – инжектирующее устройство (дозатор); 3 – инфузионная

магистраль (катетер); 4 – игла-электрод; 5 – коллектор-электрод; 6 – экранирующий короб; E – напряженность электрического поля

Приготовленные полимерные растворы, размещенные в плунжере, с помощью инжектирующего устройства через инфузионную магистраль дозированно подавались на иглу, к которой подводилось высоковольтное напряжение с целью формирования конуса Тейлора, и как следствие, полимерной струи (см. раздел 1.1.2). Благодаря кулоновскому взаимодействию одноименных электрических зарядов происходит вытягивание полимерного раствора в непрерывную струю. На пути следования струи до коллектора происходит испарение растворителя, что приводит к отвердеванию полимера в виде волокон, осаждаемых на коллекторе.

Как отмечалось ранее, подбор оптимальных параметров является необходимым стадией получения равномерных волокон и стабильного процесса ЭФ. В данной работе использовалась игла-электрод длиной 1 дюйм и внутренним диаметром 0,2 мм (Fisnar, США). Формирование равномерной струи было достигнуто при следующих параметрах: скорость подачи раствора – 1,5 мл/ч; напряжение – 6,5 кВ; расстояние между иглой и коллектором – 8 см. Осаждение волокон происходило при скорости вращения коллектора 200 об/мин для получения пористой структуры.

Для исследования распределения потенциала поверхности и пьезоэлектрических свойств методом сканирующей зондовой микроскопии (см. раздел 2.3.1) единичные полимерные микроволокна осаждались на поверхность гладких электропроводящих композитных подложек на основе полиэтилентерафталата и оксида индия (ITO-PET, Sigma-Aldrich, Германия). Подложки были зафиксированы на поверхности коллектора с помощью двухстороннего проводящего углеродного скотча.

Осаждённые на коллекторе матриксы и единичные волокна на ITO-PET подложках сушились в течение 12 часов в сушильном шкафу при

температуре 60°C для полного испарения остатков хлороформа, который может оказывать токсический эффект.

2.3 Методы исследований

2.3.1 Сканирующая зондовая микроскопия

Благодаря возможности исследования различных свойств и характеристик поверхности материалов в наномасштабе с высоким разрешением и точностью широкое распространение получила сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ). Принцип действия СЗМ-микроскопов основан на детектировании изменения положения отраженного лазерного луча с поверхности кантиливера вследствие контакта последнего с поверхностью или силовыми полями (Ван-дер-Ваальса, магнитные и т.д.). Благодаря этому СЗМ позволяет с высокой точностью оценить, например, следующие характеристики:

- топографию поверхности (атомная силовая микроскопия (АСМ));
- распределение потенциала поверхности (Кельвин-зондовая силовая микроскопия (КЗСМ));
- вертикальные (out-of-plane) и латеральные (in-plane) пьезоэлектрические отклики материала;
- и т.д.

Исследование топографии поверхности, распределения потенциала поверхности и пьезоэлектрического отклика чистых и гибридных ПОБ микроволокон с включениями ВОГ было проведено с помощью сканирующего зондового микроскопа NTEGRA Aura (ЗАО «НТ-МДТ», Россия), представленного на рисунке 2.3.1. Для КЗСМ и ПСМ использовался кантилевер ElectriMulti75G (Budget sensors, Болгария) с проводящим Pt-покрытием, высотой зонда 17 мкм, радиусом скругления $<15^\circ$, углом наклона $20-25^\circ$, жесткостью 3 Н/м и резонансной частотой 75 кГц. Для предотвращения влияния нежелательных вибраций на СЗМ-измерения была

использована активная (Micro 40, Halcyonics, Германия) и пассивная защиты (Integrated dynamics engineering, Германия).

Управление электронным блоком СЗМ осуществлялось при помощи программного обеспечения Nova (ЗАО «НТ-МДТ», Россия). Регистрируемый сигнал усиливался в 100 раз при помощи разработанной микросхемы усилителя в Университете Авейру (Португалия) и закрепленной на измерительной голове СЗМ (рисунок 2.2.1). Для дальнейшей постобработки выходной сигнал с усилителя подавался на внешний контролер HF2LI (Zurich, Швейцария).

АСМ и КЗСМ измерения были выполнены при помощи полуконтактной методики со скоростью сканирования 0,03 Гц и усилием прижатия (Set point) 5,5. Кроме того, в ходе КЗСМ измерений прикладывалось напряжение 500 мВ. В свою очередь ПСМ измерений проводились в контактном режиме со скоростью сканирования 0,04 Гц, усилием прижатия (Set point) 0,5 и прикладываемым напряжением 3-9 В частотой 11 кГц.

Обработка СЗМ-изображений проводилась при помощи современных научных программных пакетов Scanning Probe Image Processor (Image Metrology, Дания) (SPIP) и Gwyddion (Free and Open Source software). Обработка заключается в устранении дефектов сканирования (общий наклон поверхности подложкодержателя, периодические шумы) и представлении полученных данных в графическом виде с двумерным отображением рельефа поверхности.

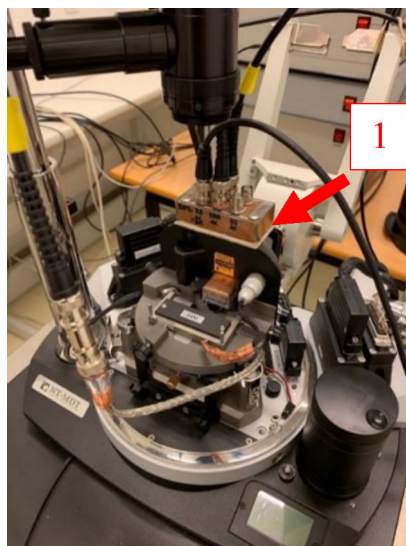


Рисунок 2.3.1 – Изображение сканирующего зондового микроскопа NTEGRA Aura: 1 – усилитель

2.3.2 Рентгеновский фазовый анализ

Для исследования кристаллической структуры и фазового состава разработанных матриц использовался метод рентгенофазового анализа (РФА). Дифракция рентгеновских лучей на кристаллической решетке (КР) лежит в основе РФА и позволяет качественно и количественно оценить фазовый состав поликристаллического материала. КР обладает набором параллельных кристаллографических плоскостей, расположенных на расстоянии d , на которых рентгеновское излучение отражается с характерным для данной КР набором брэгговских углов (θ) и относительных интенсивностей дифракционных отражений, которые регистрируются с помощью дифрактометров. Данное явление описывается законом Вульфа-Брэгга и подчиняется выражению:

$$2d \cdot \sin\theta = n \cdot \lambda, \quad (2.3.2.1)$$

где d – межплоскостное расстояние, θ – дифракционный угол скольжения, n – порядок дифракционного максимума, λ – длина волны излучения.

В данном исследовании рентгенограммы матриц были получены с помощью дифрактометра XRD-6000 (Shimadzu, Япония) с источником рентгеновских лучей CuK_α ($\lambda = 1,5409$ нм), оперируемом при величине напряжения 43 кВ и тока 40 мА. Каждая рентгенограмма измерялась в

диапазоне 2θ от 5° до 80° с шагом $0,05^\circ$ и временем выдержки в каждой точке 2 секунды. Расшифровка дифракционных спектров осуществлялась с помощью базы данных международного дифракционного центра (ICDD – The International Centre for Diffraction Data) и литературы. Размер кристаллита (D) для определенных дифракционных рефлексов ПОБ скэффолдов был посчитан с помощью формулы Дебая-Шеррера (2.3.2.1)

$$D = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (2.3.2.1)$$

где k – постоянная, зависящая от формы кристаллита ($k = 0,9$), λ – длина волны рентгеновского излучения, β – ширина рефлекса на полувысоте, θ – угол дифракции.

2.3.3 Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

Элементный и молекулярный составы поверхности разработанных гибридных скэффолдов были изучены с помощью метода рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. РФЭС основана на явлении фотоэффекта с использованием монохроматического рентгеновского излучения и позволяет определять энергии электронных уровней на основании измеренных кинетических энергий фотоэлектронов. Распределение эмитированных фотоэлектронов по кинетическим энергиям представляет собой фотоэлектронный спектр. Спектры рентгеновской фотоэмиссии несут в себе ценную информацию о природе химической связи изучаемых элементов и соединений. Интенсивность фотоэлектронных линий в спектре отражает плотность занятых электронных состояний в приповерхностном слое.

РФЭС-измерения разработанных образцов были выполнены на установке Thermo Fisher Scientific XPS NEXSA с $Al K_\alpha$ монохроматором, функционирующим при 1486 эВ. При измерениях в камере обеспечивалось давление $2,6 \times 10^{-8}$ торр. Обзорные РФЭС-спектры скэффолдов были записаны с шагом 1 эВ, а спектры высокого разрешения отдельных химических элементов в наблюдаемых образцах с шагом 0,1 эВ. РФЭС-спектры были получены путем усреднения измерений с 3 различных участков образца

площадью 200 мкм². Зарядку образца компенсировали с помощью потока низкоэнергетических электронов (процедура flood-gun). Для расчетов концентраций компонентов и калибровки РФЭС-спектров по пику углерода C 1s с энергией связи 285 эВ использовалась программа CasaXPS2316PR1.

2.3.4 Спектроскопия комбинационного рассеяния света и инфракрасная спектроскопия

Спектроскопия комбинационного рассеяния света (КРС) хорошо зарекомендовала себя в качестве метода исследования молекулярной структуры и состава полимера благодаря высокой чувствительности и возможности работы в жидких средах [89]. Кроме того, спектроскопия КРС является одним из основных методов исследования структуры графен-содержащих материалов [90].

Поглощение фотона молекулой переводит ее в нестабильное возбужденное (виртуальное) состояние, из которого она излучает фотон через короткий промежуток времени. В отличие от релеевского рассеяния (упругое рассеяние), где молекула поглощает фотон из невозбужденного (нулевого) колебательного уровня и на него же переходит после излучения без изменения своей энергии (рис. 2.3.4.1), в спектре КРС появляются спектральные линии, которых нет в спектре первичного (возбуждающего) излучения. При обычном стоксовом рассеянии молекула поглощает фотон и переходит с уровня с меньшим значением энергии на уровень с более высоким значением энергии, а энергия рассеянного фотона уменьшается за счет потери на безизлучательные процессы (рис. 2.3.4.1). Противоположная и крайне редкая ситуация наблюдается при антистоксовом рассеянии, когда в процессе взаимодействия с молекулой энергия фотона увеличивается, а молекула переходит в состояние с меньшим значением энергии за счет внешней безизлучательной накачки энергии (рис. 2.3.4.1) [91-93].

Согласно распределению Больцмана, в условиях термодинамического равновесия, заселенность колебательных уровней уменьшается с

увеличением энергии. Поэтому интенсивность антистоксовых линий в КРС-спектре значительно меньше по сравнению с интенсивностью стоксовых линий. Как правило, более интенсивная стоксовая часть рассматривается в качестве КРС-спектра. Частоту линий в спектре определяют путем вычитания частоты стоксовой линии из частоты релеевского излучения (возбуждающее). Таким образом, число и расположение обнаруженных линий в спектре представляет собой уникальный «отпечаток пальцев» исследуемой молекулы, который зависит от молекулярной структуры вещества.

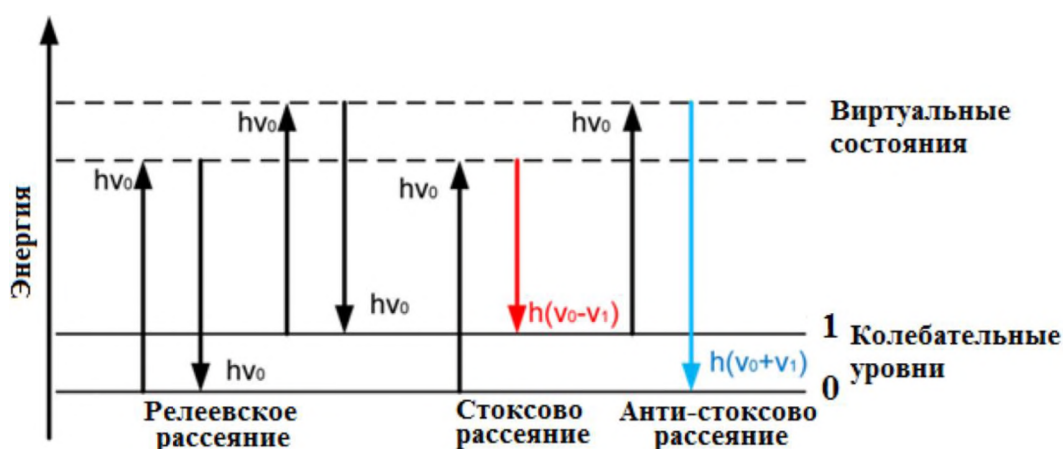


Рисунок 2.3.4.1 – Схематическое изображение принципа спектроскопии комбинационного рассеяния света в рамках квантовой теории [94].

Спектры КРС были записаны на микроскопе WITec Alpha300R, оснащённом диодным лазером TORICA (787 нм) и спектрометром UNTS-300. Для измерений КРС-спектров были использованы CaF_2 подложки, 40x/0,5 объектив (Nikon) и мощность лазера, установленной на 5 мВт с целью предотвращения расплавления полимера. Юстировка установки проводилась с помощью монокристаллических пластин кремния в качестве эталона.

По сравнению с спектроскопией КРС, инфракрасная спектроскопия позволяет выявить наличие функциональных групп на поверхности ВОГ, которые потенциально могут взаимодействовать с полимерными цепями. Инфракрасная спектроскопия основана на поглощении электромагнитного излучения определенной длины волны исследуемым объектом (возбуждение

колебательного движения молекул). В отличие от обычного спектрометра, в котором регистрация спектра выполняется во времени при последовательном движении выходящего из монохроматора спектра по выходной щели, Фурье-ИКС относятся к многоканальным приборам, что позволяет значительно снизить энергетические потери [95].

Спектры поглощения ВОГ регистрировались в диапазоне длин волн 400-4000 см^{-1} с шагом 0.1 см^{-1} с помощью Фурье-ИК спектрометра VERTEX 70 FTIR (Bruker, Германия). Усреднённый спектр каждого из матриксов получался на основе 20 сканов. Анализ спектров поглощения ПОБ и ВОГ выполнялся на основе литературных данных.

2.3.5 Растровая электронная микроскопия

Для исследования влияния концентрации ВОГ, биорезорбции и формирования неорганической костной фазы в динамических механических условиях (генерация прямого пьезоэлектрического эффекта) на морфологию поверхности микроволокнистых пористых ПОБ матриксов использовался метод растровой электронной микроскопии. Исследование в РЭМ происходит с помощью сфокусированного пучка электронов. Двумерное изображение исследуемой поверхности (РЭМ изображения) формируется на основе детектируемых сигналов: обратно рассеянные и вторичные электроны, ток пропускаемый через образец и рентгеновское излучение.

В данной научно-исследовательской работе РЭМ-изображения были получены с помощью Quanta 200 и Quanta 400 (FEI, Нидерланды) с максимальной разрешающей способностью до 2 нм. Для улучшения качества РЭМ-изображений на поверхность микроволокон напылялось проводящее покрытие на основе Au/Pt (80/20). Площадь матриксов при измерениях составляла $1 \times 1 \text{ см}^2$. Ускоряющей напряжением на аноде составляло 10 кэВ. Распределение диаметра микроволокон рассчитывалось на основе 100 измерений, выполненных с помощью программного обеспечения (ПО) Origin Pro 9.1 (Originlab Corporation, США).

Кроме того, исследование элементного состава сформированной неорганической костной фазы на поверхности микроволокон в динамической механической системе осуществлялось с помощью энергодисперсионного рентгеновского анализа (ЭДРА), реализованного на базе сканирующего электронного микроскопа в виде встроенного ЭДРА-анализатора (EDS Genesis 4000, детектор S-UTW-Si(Li)). Принцип действия ЭДРА заключается в детектировании рентгеновских квантов, испускаемых при взаимодействии пучка электронов с поверхностью исследуемого материала.

2.3.6 Исследование физико-механических свойств

Механические свойства синтетических скэффолдов определяют их эффективность и должны соответствовать требованиям, предъявляемым к биоматериалам в рамках регенеративной костной инженерии. Особенно важно знать влияние, оказываемое ВОГ и биорезорбции на механическое поведение матриксов.

В данной научно-исследовательской работе механические свойства скэффолдов исследовались методом растяжения до разрушения с помощью универсальной разрывной машины UTM LS5 (LLoyd instruments, Великобритания) с предельной силой нагружения 5 кН. Для получения статистически значимых результатов на разрывной машине исследовалось минимум по 5 образцов каждого состава. Физические размеры образцов соответствовали размерам используемых для исследования гидролиза матриксов (раздел 2.3.8): длина – 3,5 см, ширина – 1 см, толщина – 0,1 мм. Для предотвращения повреждения образцов во время экспериментов 0,5 см от общей длины матриксов фиксировалось в каждом из зажимов. Скорость растяжения составляла 5 мм/мин. Во время экспериментов фиксировалось максимальное относительное удлинение (ε – [%]) при растяжении и предел прочности (σ_E – [МПа]), соответственно:

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100, \quad (2.3.6.1)$$

$$\sigma_E = \frac{F_p}{S_0}, \quad (2.3.6.2)$$

где Δl – абсолютное удлинение при разрыве; l_0 – начальная длина образца до разрыва; F_p – максимальная сила, прикладываемая при растяжении, которую выдерживает образец; S_0 – площадь начального поперечного сечения.

С помощью кривой зависимости механического напряжения (σ) от относительного удлинения (ε) вычислялся модуль упругости (E) согласно следующей формуле:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}. \quad (2.3.6.3)$$

2.3.7 Смачиваемость поверхности и свободная поверхностная энергия

Одной из важнейших характеристик поверхности биоматериала является смачиваемость. Считается, что смачиваемость наравне с топографией и химией поверхности оказывает влияние на адгезию и рост клеток, а, следовательно, и регенерацию участка поврежденной костной ткани. Оценить смачиваемость той или иной поверхности биоматериала можно при помощи измерения величины краевого угла (КУ) θ , образующегося при контакте капли жидкости с поверхностью объекта, который можно определить, используя закон Юнга:

$$\cos \theta = \frac{\sigma_{тг} - \sigma_{жт}}{\sigma_{жг}}, \quad (2.3.7.1)$$

где $\sigma_{тг}$, $\sigma_{жт}$ и $\sigma_{жг}$ поверхностные энергии на границе раздела фаз: твердое тело-газ, жидкость-твердое тело, жидкость-газ.

Если значение краевого угла превышает значение 90° , то такую поверхность называют «гидрофобной» (ограниченная смачиваемость). А если значение краевого угла меньше 90° – такая поверхность называется «гидрофильной» (жидкость смачивает поверхность). В теории считается, что при абсолютном смачивании значение $\cos \theta = 0^\circ$, а при абсолютном не смачивании $\cos \theta = 180^\circ$.

Свободная поверхностная энергия – термодинамическая функция, определяющая взаимодействие между твердым телом и жидкостью, которая рассчитывается на основании значений измеренного краевого угла θ различных экспериментальных жидкостей. Одним из наиболее широкого

применяемых методов для расчета СПЭ является метод Оуэнса-Вендта-Рабея-Каелбле (ОВРК). Согласно методу ОВРК, СПЭ состоит из полярной и дисперсионного компонент. Полярная составляющая включает в себя сильные межмолекулярные взаимодействия и водородные связи, тогда как дисперсионная составляющая включает в себя силы Ван-дер-Ваальса и различные неспецифические межмолекулярные взаимодействия. Эти представления описываются следующим уравнением:

$$\frac{\sigma_{\text{ж}} (\cos \theta + 1)}{2\sqrt{\sigma_{\text{ж}}^{\text{Д}}}} = \frac{\sqrt{\sigma_{\text{Т}}^{\text{П}}} \cdot \sqrt{\sigma_{\text{ж}}^{\text{П}}}}{\sqrt{\sigma_{\text{ж}}^{\text{Д}}}} + \sqrt{\sigma_{\text{Т}}^{\text{Д}}}, \quad (2.3.7.2)$$

где $\sigma_{\text{ж}}$ – общее поверхностное натяжение смачивающей жидкости, $\sigma_{\text{ж}}^{\text{Д}}$ – дисперсионная компонента поверхностного натяжения смачивающей жидкости, $\sigma_{\text{ж}}^{\text{П}}$ – полярная компонента поверхностного натяжения смачивающей жидкости, $\sigma_{\text{Т}}^{\text{П}}$ – полярная компонента СПЭ твердого тела, $\sigma_{\text{Т}}^{\text{Д}}$ – дисперсионная компонента СПЭ твердого тела.

Для вычисления СПЭ твердого тела необходимо по меньшей мере две жидкости с известными полярной и дисперсионной компонентами. При этом, в одной из жидкостей должна существенно доминировать одна из составляющих СПЭ, а в другой наоборот.

Измерения КУ смачивания поверхности разработанных скэффолдов было выполнено с помощью метода сидячей капли на приборе OCA 15 Plus и программного обеспечения SCA20 software (Data Physics Instruments GmbH, Germany). Измерения проводились при комнатной температуре. Для получения достоверного результата при измерениях использовали по 5 образцов каждого типа, на поверхности которых площадью $1 \times 1 \text{ см}^2$ наносили по меньшей мере по 3 капли смачивающей жидкости. В качестве стандартных жидкостей были использованы вода, глицерин и этиленгликоль.

2.3.8 Исследование гидролиза скэффолдов

Для исследования влияния гидролиза на структуру и физические свойства чистых и гибридных ПОБ микроволокон с добавлением ВОГ

полученные матриксы погружались в натрий-фосфатный буфер (phosphate buffer saline (PBS)), содержащий 0,25 мг/мл панкреатической свиной липазой. В качестве контроля для подтверждения активности фермента в растворы также погружались матриксы на основе ПКЛ, которые при контакте с липазой резорбируют в несколько раз быстрее ПОб [96]. Для получения буфера таблетки PBS (Sigma-Aldrich, Германия) растворялись в деионизованной воде при температуре 37°C с помощью магнитной мешалки C-Mag HS 10 digital (ИКА, Германия). После этого, в буферный раствор добавляли 0,25 мг/мл липазы (Sigma-Aldrich, Германия) и 1 мг/мл азидата натрия (Sigma-Aldrich, Германия), который позволяет предотвратить рост микроорганизмов и их вклад в биорезорбцию ПОб матриксов [97]. По завершению растворения липазы и азидата натрия, кислотность (рН) полученного буферного раствора контролировалась с помощью рН-метра Sension+ MM 374 (Hach, США) и при необходимости доводилась до 7,4 с помощью добавления HCl (повышение кислотности) или NaOH (понижение кислотности).

В 15 мл пробирки, содержащие приготовленный буферный раствор, погружались матриксы площадью $3,5 \times 1 \text{ см}^2$. Инкубированные скэффолды помещались в термостат при 37°C на 30 дней. PBS раствор обновлялся 2 раза в неделю для каждого из матриксов. Для получения статистически значимого результата в буферном растворе инкубировалось по 9 матриксов каждого состава. Изменения массы каждого из матриксов до и после инкубирования отслеживались с помощью аналитических весов Quantix (Sartorius, Германия). После инкубации в буфере каждый образец промывался в водном растворе додецилсульфата натрия (0,1 мас.%) с последующей сушкой при температуре 50°C в течение 24 часов перед взвешиванием.

Для подтверждения процесса гидролиза скэффолдов, изменение массы (Δm) образцов после инкубации в буфере вычислялось согласно выражению:

$$\Delta m = \left(\frac{m_0 - m_B}{m_0} \right) \times 100, \quad (2.4.1.1)$$

где m_0 – начальная масса матриксов; m_e – масса высушенного матрикса после инкубации в PBS.

2.3.9 Дифференциальная сканирующая калориметрия

Тепловые свойства чистых и гибридных ПОБ скэффолдов были исследованы с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии на приборе TA Instruments SDT Q600 V20.9. Образцы весом около 5 мг помещали в алюминиевый тигель. Образцы нагревали от комнатной температуры до 210°C при скорости нагрева 10 °C /мин в атмосфере азота. Степень кристалличности скэффолдов на основе ПОБ (X_c) может быть рассчитана с помощью следующего уравнения [98]:

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_{m0}} \times 100\%, \quad (2.3.9.1)$$

где ΔH_m – изменение энтальпии, вызванное плавлением исследуемого образца, ΔH_{m0} – теоретическое значение для термодинамической энтальпии плавления (146 Дж/г), которое было бы получено для 100%-кристаллических образцов ПОБ [99].

2.4 Моделирование

Добавление ВОГ потенциально приводит к формированию β -фазы в ПОБ, что может оказывать влияние на экспериментальные результаты измерения пьезоотклика гибридных микроволокон. Более того, в литературе имеются подтверждения формирования β -фазы в ПОБ пленках, подвергнутых растяжению [49], которая теоретически является электроактивной [100]. Однако, влияние β -фазы на пьезоотклик ПОБ не изучено на данный момент. Поэтому в рамках диссертационной работы было выполнено сравнение результатов моделирования пьезоотклика микроволокна α -фазы ПОБ с экспериментальными результатами для гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон.

2.4.1 Моделирование пьезоотклика ПОВ

Для описания законов физических процессов, задачи которых зависят от пространства и времени, используют дифференциальные уравнения в частных производных. Эти уравнения для большинства задач и геометрий не могут быть решены с помощью аналитических методов. Поэтому, основываясь на различных типах дискретизации, строят аппроксимацию для таких уравнений. Дифференциальные уравнения в частных производных сводятся к алгебраическим уравнениям, которые могут быть решены с использованием численных методов, методами дискретизации. Получаемое решение модели представляет собой приближение реального решения уравнений в частных производных. Для вычислений таких приближений хорошо зарекомендовал себя метод конечных элементов (МКЭ).

Большинство математических моделей содержит систему дифференциальных или интегральных уравнений относительно функций координат и времени, которые являются важнейшими характеристиками исследуемого процесса. Метод конечных элементов (МКЭ) – это метод, основанный на разбиении исследуемой области на небольшие участки различной формы (конечные элементы) и применяемый для решения задач математической физики. На границах каждого элемента выбираются отдельные точки (узлы), которые обеспечивают связь между соседними элементами и представление искомой функции в пределах элемента простым выражением.

Таким образом, суть МКЭ состоит в замене дифференциальных уравнений, описывающих процесс или объект системой алгебраических уравнений [101]. Благодаря этому, МКЭ нашел широкое применение в науке и технике для решения различных задач физики.

Моделирование прямого (пьезопотенциала) и обратного пьезоэлектрического эффекта (смещения/деформации) в материале может быть успешно выполнено с помощью МКЭ, который реализован в программном обеспечении (ПО) Comsol Multiphysics. Для этого в данном ПО

разработан режим «деформация-заряд» («strain-charge»), который основывается на взаимосвязи между поляризацией материала и его механической деформацией [102]. Эта взаимосвязь описана следующими уравнениями:

$$S = s_e T + d^T E \quad (2.4.1.1)$$

$$D = dT + \varepsilon_0 \varepsilon_{rT} E \quad (2.4.1.2)$$

где S – деформация, T – напряжение, E – электрическое поле, D – смещение электрического поля, ε_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума. Параметры материала s_E , d и ε_{rT} означают соответственно податливость материала, коэффициент электромеханической связи (пьезоэлектрический коэффициент), относительную диэлектрическую проницаемость при постоянном напряжении. Данные параметры являются тензорами 4-го ранга. Тензоры обладают высокой степенью симметрии по физическим причинам, что позволяет представлять их в виде матриц с подстановкой индексов с помощью нотации Фойгта [103]. С использованием данной нотации представленные выше уравнения (2.4.1.1) и (2.4.1.2) могут быть записаны в виде:

$$\begin{pmatrix} S_{xx} \\ S_{yy} \\ S_{zz} \\ S_{yz} \\ S_{xz} \\ S_{xy} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} s_{E11} & s_{E12} & s_{E13} & s_{E14} & s_{E15} & s_{E16} \\ s_{E21} & s_{E22} & s_{E23} & s_{E24} & s_{E25} & s_{E26} \\ s_{E31} & s_{E32} & s_{E33} & s_{E34} & s_{E35} & s_{E36} \\ s_{E41} & s_{E42} & s_{E43} & s_{E44} & s_{E45} & s_{E46} \\ s_{E51} & s_{E52} & s_{E53} & s_{E54} & s_{E55} & s_{E56} \\ s_{E61} & s_{E62} & s_{E63} & s_{E64} & s_{E65} & s_{E66} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} T_{xx} \\ T_{yy} \\ T_{zz} \\ T_{yz} \\ T_{xz} \\ T_{xy} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} d_{11} & d_{21} & d_{31} \\ d_{12} & d_{22} & d_{32} \\ d_{13} & d_{23} & d_{33} \\ d_{14} & d_{24} & d_{34} \\ d_{15} & d_{25} & d_{35} \\ d_{16} & d_{26} & d_{36} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} \quad (2.4.1.3)$$

$$\begin{pmatrix} D_x \\ D_y \\ D_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} d_{11} & d_{12} & d_{13} & d_{14} & d_{15} & d_{16} \\ d_{21} & d_{22} & d_{23} & d_{24} & d_{25} & d_{26} \\ d_{31} & d_{32} & d_{33} & d_{34} & d_{35} & d_{36} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} T_{xx} \\ T_{yy} \\ T_{zz} \\ T_{yz} \\ T_{xz} \\ T_{xy} \end{pmatrix} + \varepsilon_0 \begin{pmatrix} \varepsilon_{rS11} & \varepsilon_{rS12} & \varepsilon_{rS13} \\ \varepsilon_{rS21} & \varepsilon_{rS22} & \varepsilon_{rS23} \\ \varepsilon_{rS31} & \varepsilon_{rS32} & \varepsilon_{rS33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} \quad (2.4.1.4)$$

Согласно представленным выше уравнениям для моделирования пьезоотклика материала необходимо внести следующие его свойства (параметры) в библиотеку Comsol Multiphysics:

- относительная диэлектрическая проницаемость,
- плотность,
- матрица соответствия,
- матрица компонент пьезоэлектрического тензора.

Значение плотности и относительной диэлектрической проницаемости ПОб хорошо известны в литературе и составляют $\rho = 1,25 \text{ гр/см}^3$ и $\epsilon_r = 2,6$ [104, 105]. При помощи первопринципного подхода (раздел 2.4.2) были выполнены расчеты компонент матрицы упругости и податливости для хорошо изученной орторомбической α -фазы ($P2_12_12_1$) ПОб [49].

Для орторомбической симметрии кристалла пространственного класса 222 используются три сдвиговых пьезоэлектрических коэффициента (раздел 1.3.1), равные по модулю и по знаку: d_{14} , d_{25} и d_{36} . Но, согласно литературе, α -фаза (ламелии) ПОб представляет собой кристалл с одноосной ориентацией, для которой коэффициент d_{36} может быть приравнен к нулю при условии, что деформация сдвига индуцируется перпендикулярно направлению электрического поля. Анализ литературы также установил, что пьезокоэффициент имеет отрицательное значение из-за D -конформации [55], а коэффициент d_{25} равен по модулю d_{14} [106, 107].

На сегодняшний день только одно значение пьезомодуля d_{14} было экспериментально измерено, а именно $d_{14} = -1,4 \text{ пКл/Н}$ [54]. Однако, данное значение пьезомодуля d_{14} отражает эффективный пьезоэлектрический отклик, измеренный на макроуровне со всей поверхности тонких ПОб пленок. Следовательно, на фундаментальном уровне нельзя утверждать, что пьезоэлектрический тензор α -фазы ПОб равен именно $-1,4 \text{ пКл/Н}$. Поэтому в рамках модели микроволокна (длиной 10 мкм и радиусом кривизны 1,5 мкм) на основе α -фазы значения d_{14} варьировались от -1 до -8 пКл/Н . Плоская поверхность волокна (рисунок 2.4.1.1а), представляющая собой заземленную подложку («Ground»), была неподвижна («Fixed constraint»). При моделировании прямого пьезоэффекта к поверхности волокна было приложена сила величиной 10 нН, идентичная той (рисунок 2.4.1.1б), которую

могут оказывать клетки при адгезии на поверхности материала [108]. При обратном пьезоэффекте электрический потенциал («Electric Potential») прикладывался к линии длиной 50 нм в верхней части волокна (рисунок 2.4.1.1б), имитирующей область контакта волокна с проводящим зондом сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) [68]. Во всех экспериментах прикладываемое напряжение составляло 9 В.

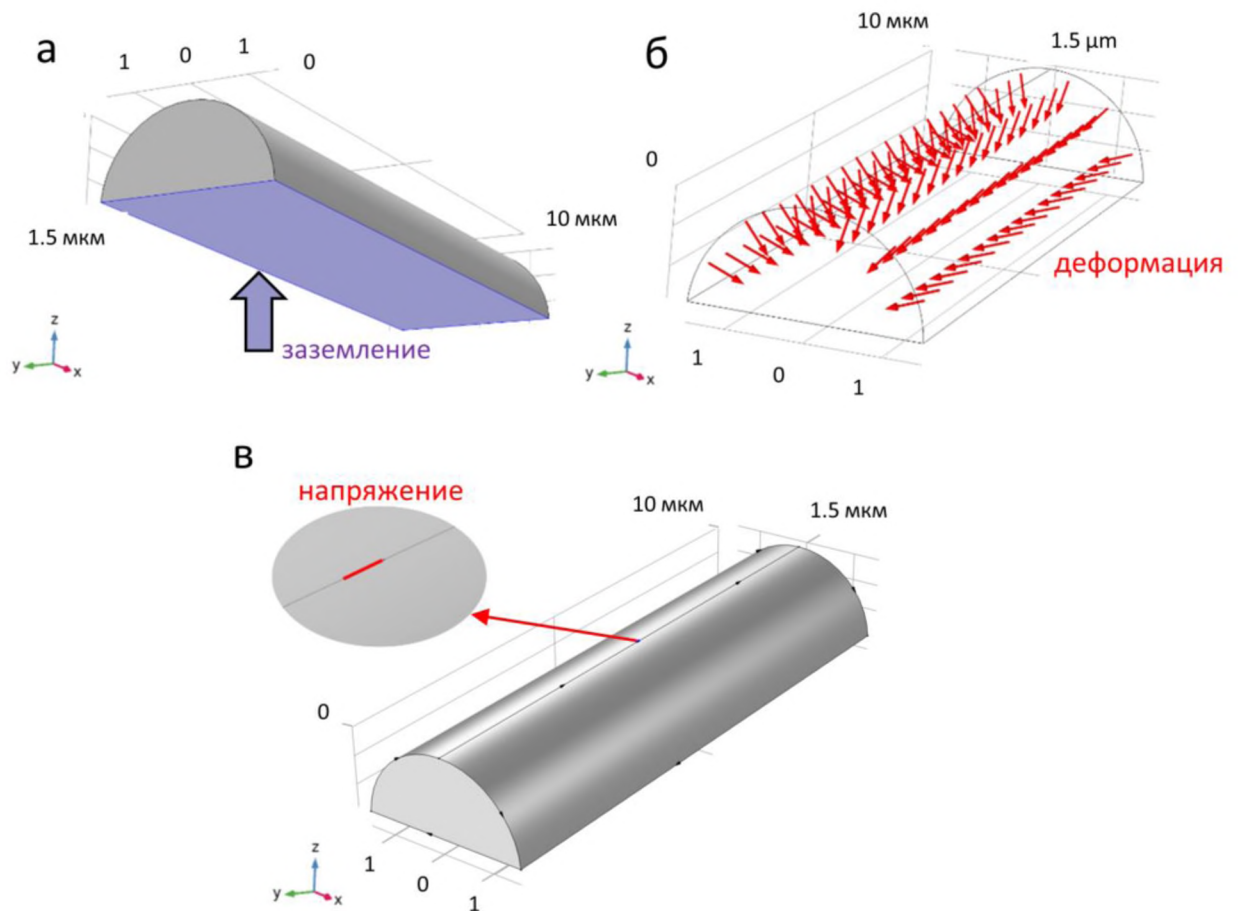


Рисунок 2.4.1.1 – Схематическое изображение граничных условий, использованных для моделирования прямого и обратного пьезоэффекта в микроволокнах на основе α -фазы ПОБ: (а) заземление, (б) область приложения механической деформации, (в) область приложения электрического напряжения. Приведенные стрелки указывают направление механической нагрузки.

2.4.2 Первопринципное моделирование

В настоящее время большой интерес направлен на атомистическое моделирование свойств различных материалов методами молекулярной

динамики (МД) и квантово-химических расчётов. МД является методом компьютерного моделирования, основанным на интегрировании уравнений движения в классической механике, который используется для моделирования изменения во времени многоатомных систем. Принципиальным условием успешного применения МД является существование адекватных моделей потенциалов межатомного взаимодействия [109], которые до настоящего времени все еще не доступны для значительного числа химических веществ. Кроме того, методы МД не способны моделировать электронные свойства и химические процессы, связанные с разрывом старых и образованием новых связей. В квантово-химических методах, основанных на теории функционала электронной плотности (ТФП) [110-116], используются локализованные базисы для представления электронной структуры и базисы плоских волн для периодических систем. Поэтому квантово-химические методы, результаты расчетов которых согласуются с экспериментальными данными, нашли широкое применение для исследования многофазовых систем на атомном уровне и прогнозирования явлений и процессов, для изучения которых пока не существует экспериментальных методов и технологий.

Первопринципный подход, который основан на ТФП, является одним из самых эффективных методов для расчета электронной структуры, а также динамики решетки кристаллов. Для проведения расчётов полной энергии изучаемой системы с высокой точностью этим методом необходимо знать структуру материала, которую определяют экспериментально.

В данном диссертационном исследовании упругие свойства α -фазы ПОб были определены с помощью первопринципных расчетов на базе ТФТ методом проекционных присоединённых волн [117], который успешно реализован в лицензионном пакете VASP-4.6 (*Vienna Ab initio Simulation Package*) [118-122]. Релаксация атомной геометрии осуществлялась в рамках обобщенного градиентного приближения обменно-корреляционного функционала [123].

В работе использовались следующие конфигурации валентных электронов: $1s^1$ для водорода, $2s^2 2p^2$ для углерода и $2s^2 2p^4$ для кислорода. Энергия обрезания составляла 520 эВ для базиса плоских волн элементарной ячейки α -фазы ПОб. Интегрирование по зоне Брюллиэна выполнялось с помощью набора специальных k -точек Монхорста-Пака $5 \times 5 \times 10$ [124] для α -фазы ПОб. Полная энергия сходилась с точностью до 0,01 эВ.

После полной оптимизации элементарной ячейки для расчета констант упругости применяется подход «деформация-напряжение» (stress-strain), реализованный в VASP с использованием следующих ключевых тегов в файле INCAR: IBRION = 6, ISIF = 3, POMPIT=0,03 и NFREE=2 (таблица 2.4.2.1). Файл INCAR является центральным входным файлом для VASP, который определяет «что делать и как это делать». При вычислениях с помощью зависимости «деформация-напряжение» упругие константы были установлены путем задания шести конечных искажений решетки с шагом $\pm 0,03$ Å. Кроме того, для α -фазы ПОб были рассчитаны объемный модуль (B), модуль сдвига (G) и модуль Юнга (E) с помощью метода Фойгта-Ройсса-Хилла [125]. Атомная структура α -фазы ПОб в диссертационном исследовании была визуализирована с помощью программы VESTA-3 [126].

Таблица 2.4.2.1 - Обзор тегов INCAR, использованных для проведения расчетов в рамках диссертационного исследования.

IBRION=6	определяет, как ионы обновляются и перемещаются
ISIF=3	определяет, рассчитывается ли тензор напряжений и какие основные степени свободы могут изменяться в релаксационном и молекулярно-динамическом прогонах.
POMPIT=0,03	устанавливает временной шаг в молекулярной динамике или ширину шага в ионной релаксации
NFREE=2	указывает количество запомненных шагов в истории прогонов ионной конвергенции или количество ионных смещений в расчетах замороженных фононов.

2.5 Выводы по главе 2

1. Описаны материалы, использованные в диссертационном исследовании для получения композитов на основе ПОБ и ВОГ, а также параметры электроформования для получения волокнистых скэффолдов.

2. Проведен анализ ключевых характеристик и особенностей различных методов и подходов, которые используются при изучении химических, микроструктурных, физико-механических и электромеханических свойств полимерных скэффолдов.

3. Рассмотрены методики и подходы, используемые при выполнении первопринципных исследований и моделировании пьезоэффекта материалов.

4. Изучено влияние гидролиза на морфологию, микроструктуру, физико-механические и электромеханические свойства гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов.

Глава 3. Исследование морфологии, химического состава и микроструктуры гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов

3.1 Морфология и распределение гибридных волокон по размеру

В данном разделе представлены результаты исследования морфологии гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов. Морфология и структура скэффолда в значительной степени влияют на эксплуатационные параметры конструкции и представляют интерес как для материаловедения, так и для физики конденсированного состояния.

На рисунке 3.1.1 представлены РЭМ-изображения чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов. Видно, что с помощью метода электроформования были успешно получены бездефектные (без «бусин») ПОБ скэффолды с развитой беспорядочно ориентированной микроволокнистой структурой (рисунок 3.1.1а), имеющей межволоконные пустоты (поры), которые благоприятны для направленного роста клеточной культуры. При этом добавление ВОГ с концентрациями от 0,2 до 1,0 мас.% не приводит к изменению морфологии ПОБ скэффолдов.

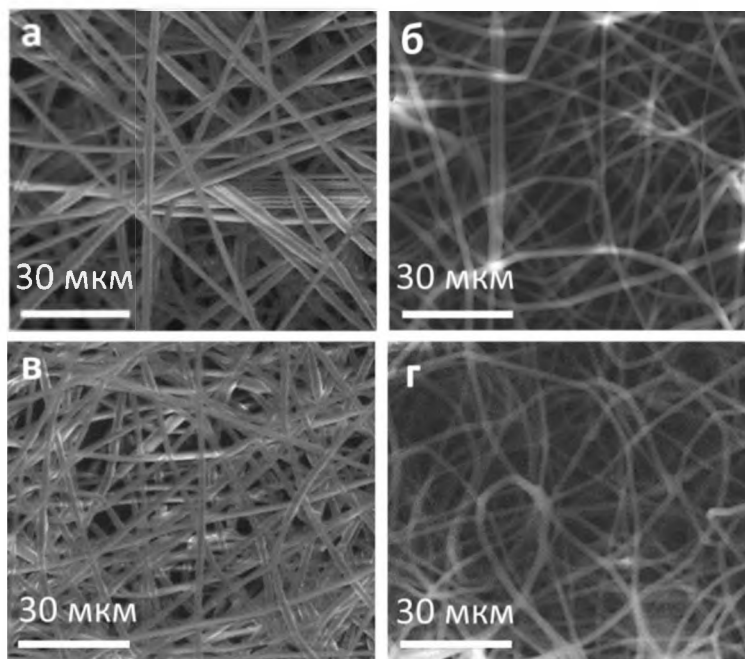


Рисунок 3.1.1 – (а-г) РЭМ-изображения волокнистых ПОБ скэффолдов с различным содержанием ВОГ: (а) чистый ПОБ %, (б) 0,2 мас.%, (в) 0,7 мас.% и (г) 1,0 мас.% ВОГ

Добавление 1 мас.% ВОГ приводит к снижению среднего диаметра ПОБ микроволокон с $2,1\pm 0,4$ мкм до $1,5\pm 0,3$ мкм. Уменьшение диаметра микроволокон в случае ПОБ-ВОГ композитов может быть вызвано повышенной проводимостью раствора, влияющей на размер конуса Тейлора вследствие накопления заряда на частицах ВОГ в струе полимерного раствора. При этом также возможен вклад электростатического отталкивания между частицами ВОГ во время электроформования, что приводит к вытягиванию полимерной струи и снижению диаметра формируемых волокон [127, 128].

3.2 Микроструктура и степень кристалличности гибридных скэффолдов

Пьезоэлектрические и физико-механические свойства скэффолдов определяются их кристаллической структурой. Следовательно, проведение исследований кристаллической структуры скэффолдов является критически важным. Важно отметить, что кристаллическая структура природного ПОБ

является слабо изученной. До недавнего времени считалось, что конструкции на основе природного ПОБ обладают поликристаллической структурой, содержащей α -фазу [54, 129]. Последние исследования ряда авторов по изучению структуры ПОБ пленок и скэффолдов, подвергаемых растяжению при нагреве, показывают возможность также образования зигзагообразной конформации (β -фазы) [130, 131]. При этом механизмы формирования β -фазы в гибридных микроволокнистых ПОБ скэффолдах с добавлениями различных наполнителей, как ВОГ и другие, не изучены.

В результате анализа рентгенограмм чистых и гибридных скэффолдов с включениями ВОГ установлено наличие рефлексов природного ПОБ R-формы (PDF4+ №068-1411), согласно международной дифракционной базе данных (рисунок 3.2.1а). Пики орторомбической α -фазы ПОБ пространственной группы $P2_12_12_1$ ($a=5,76 \text{ \AA}$, $b=13,20 \text{ \AA}$, c (направление роста ламелей) $= 5,96 \text{ \AA}$) зарегистрированы в скэффолдах всех составов при углах $13,4^\circ$ (020), $16,9^\circ$ (110), $21,5^\circ$ (101), $22,4^\circ$ (111), $25,2^\circ$ (031), $25,5^\circ$ (130) и $27,1^\circ$ (040). Добавление 0,7 мас.% ВОГ в ПОБ скэффолды приводит к увеличению интенсивности наблюдаемого брэгговского пика при 20° . Дифрактограммы гибридных скэффолдов с более низким и высоким содержанием ВОГ (0,2 и 1,0 мас.%) показывают идентичную интенсивность данного рефлекса по сравнению с чистыми ПОБ скэффолдами. Согласно анализу литературы, появление брэгговского пика при 20° в дифрактограмме ПОБ соответствует (110) плоскости гексагональной упаковки зигзагообразной конформации (β -форма) с пространственной группой $P3_221$ [49].

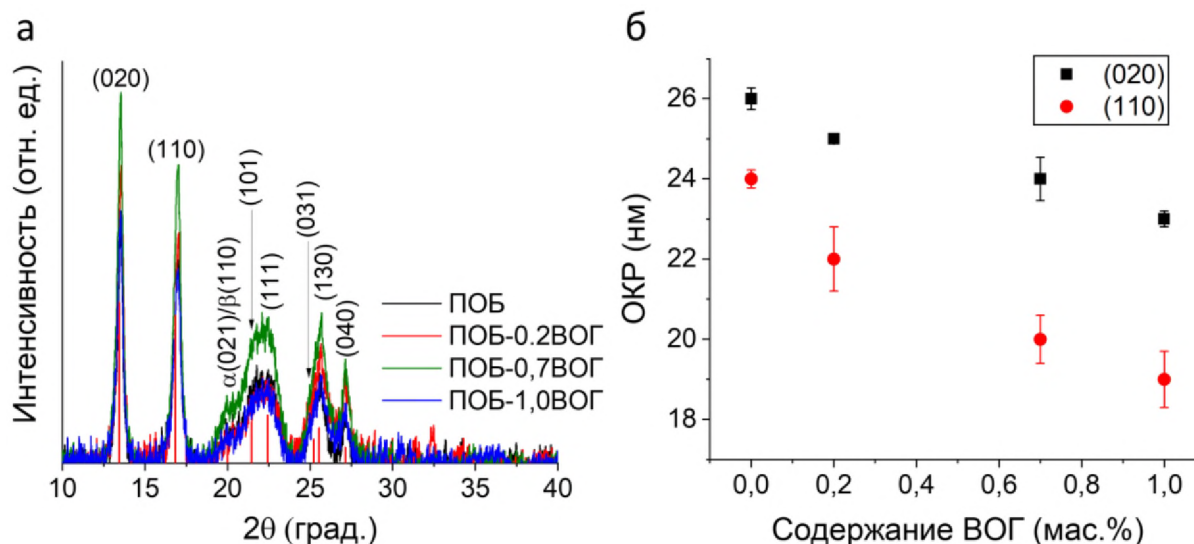


Рисунок 3.2.1 – (а) Нормализованные рентгенограммы гибридных скэффолдов и (б) зависимость значений ОКР для (020) и (110) плоскостей α -фазы ПОВ от содержания ВОГ.

С помощью формулы Шеррера (2.3.2.1) было установлено, что по мере увеличения содержания ВОГ в гибридных ПОВ-ВОГ скэффолдах происходит уменьшение размеров ОКР α -фазы. Для расчетов ОКР использовались две наиболее интенсивные плоскости (020) и (110) α -фазы, которые не имеют наложений с остальными рефлексами. Так средние значения ОКР для (020) и (110) плоскостей α -фазы ПОВ снизились соответственно с $26,0 \pm 0,3$ нм до $23 \pm 0,2$ нм и $24 \pm 0,2$ нм до $19 \pm 0,7$ нм при 1,0 мас.% содержании ВОГ в скэффолдах.

Снижение среднего размера ОКР α -фазы свидетельствует о снижении размеров ламелей, что может быть вызвано встраиванием ВОГ. При этом происходит формирование зигзагообразной конформации (β -фазы) между парными ламелями, что приводит к наблюдаемому увеличению интенсивности брэгговского рефлекса при $20^\circ 2\theta$. Аналогичные наблюдения были опубликованы в литературе при растяжении пленок и скэффолдов на основе чистого ПОВ [49, 130, 131]. При этом важно отметить снижение интенсивности дифракционного пика β -фазы и продолжающееся уменьшение размеров ОКР α -фазы при 1,0 мас.% содержании ВОГ в гибридных ПОВ скэффолдах. Следовательно, содержание ВОГ более 0,7 мас.% препятствует

формированию β -фазы и росту ламелей в электроформованных микроволокнистых ПОБ скэффолдах.

Исследование степени кристалличности (X_c) с помощью ДСК позволило установить изменение фазового состава в гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдах (таблица 3.2.1). Из представленных результатов видно, что добавление ВОГ до 1,0 мас.% не оказывает влияние на термическую стабильность (температуру плавления) ПОБ скэффолдов. Температура плавления электроформованных чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов, разработанных в рамках исследования, составила 175° , что соответствует литературным данным [132].

Таблица 3.2.1 – Степень кристалличности (X_c), температура (T_m) и энтальпия (H_m) плавления чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов.

Состав	$T_m, ^\circ\text{C}$	$H_m, \text{Дж/г}$	$X_c, \%$
ПОБ	175	91	62
ПОБ-0,2ВОГ	175	91	62
ПОБ-0,7ВОГ	175	88	60
ПОБ-1,0ВОГ	175	86	59

Однако, по мере увеличения содержания ВОГ происходит постепенное снижение значения степени кристалличности гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов, что свидетельствует об увеличении содержания аморфной фазы. Так величина X_c ПОБ скэффолдов уменьшилась с 62 % до 59 % при 1,0 мас.% добавлении ВОГ в структуру полимера (таблица 3.2.1).

3.3 Влияние ВОГ на химический и молекулярный состав ПОБ скэффолдов

Химический состав подготовленных образцов определялся методом РФЭС. Используемые экспериментальные параметры и основы метода изложены в разделе 2.3.3.

На рисунке 3.3.1а представлены полные РФЭС-спектры чистого ПОБ и гибридного ПОБ-1,0ВОГ скэффолдов, на которых видны типичные полосы кислорода и углерода, свойственные полимеру. Анализ РФЭС-спектров высокого разрешения участков C 1s и O 1s для чистых и гибридных скэффолдов позволил подтвердить наличие ВОГ в поверхностных слоях микроволокон (рисунок 3.3.1б-в). Спектры были откалиброваны согласно рефлексу C 1s, который должен находиться при энергии 285 эВ, что соответствует органическим соединениям (рисунок 3.3.1б) [133].

Деконволюция спектра высокого разрешения участка C 1s скэффолдов позволила выявить наличие трех типичных функциональных групп для ПОБ и ВОГ: C-C при 285 эВ, C-O при 286,7 эВ и C=O при 289 эВ [134, 135]. Как видно из представленных результатов (рисунок 3.3.1б), добавление 1,0 мас.% ВОГ в ПОБ скэффолды приводит к значительному увеличению относительного содержания C-C функциональной группы (258 эВ) с 36 % до 53 %, что обусловлено вкладом sp^2 - и sp^3 -гибридизированных атомов углерода ВОГ [135]. Анализ спектров O 1s участка подтверждает наличие кислородсодержащих функциональных групп на поверхности чистого и гибридного скэффолдов, как C-O при 532 эВ и C=O при 533,4 эВ [134, 135], которые соответствуют ПОБ и ВОГ. Из сравнения O 1s спектров чистого и гибридного скэффолдов видно, что добавление 1,0 мас.% ВОГ приводит к увеличению содержания полярных C=O функциональной группы (532 эВ) с 31 % до 53 % на поверхности микроволокон.

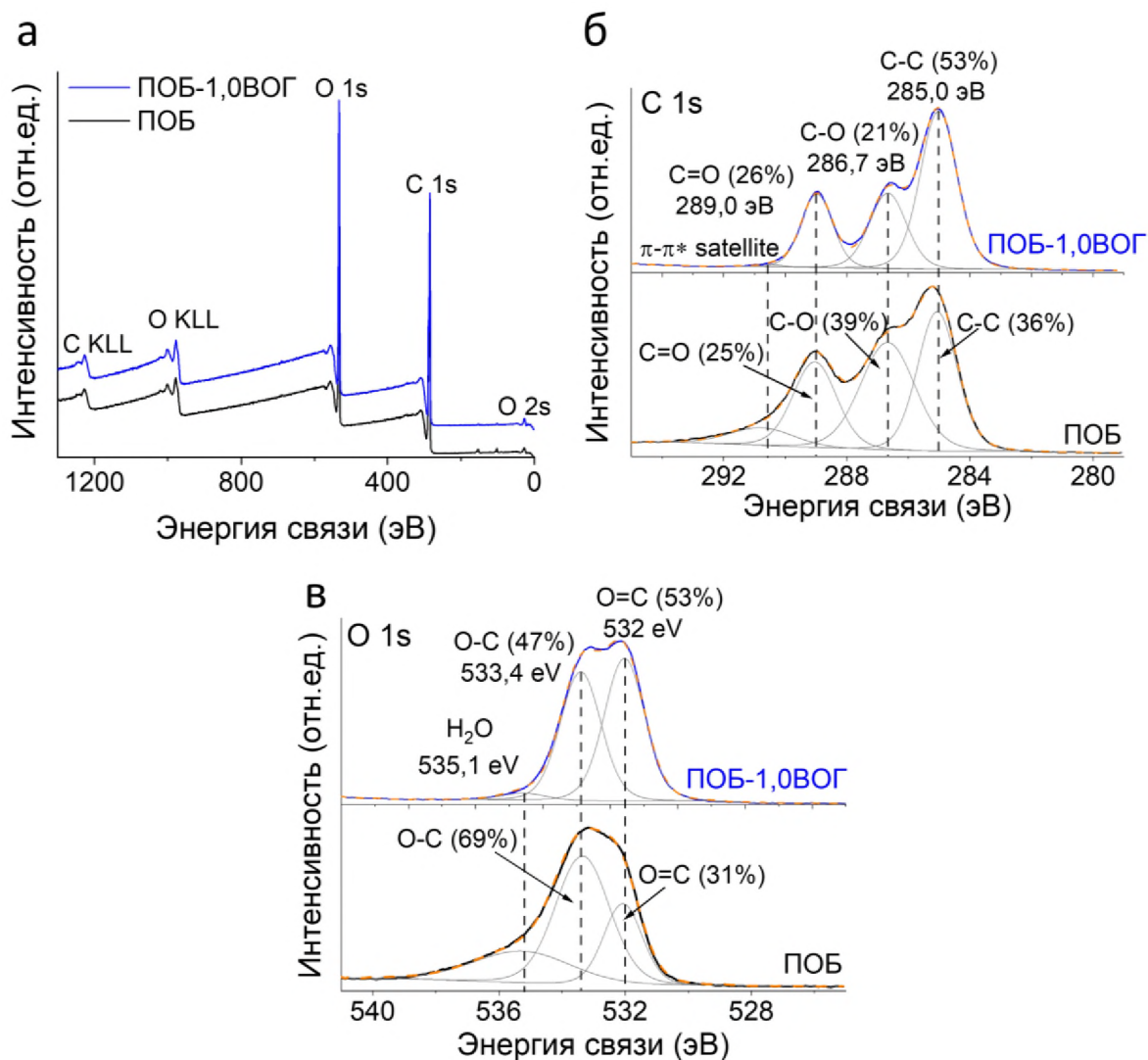


Рисунок 3.3.1 – (а) Полные РФЭС-спектр и (б-в) высокого разрешения участков (б) C 1s и (в) O 1s для чистого ПОБ и гибридного скэффолда с 1,0 мас.% содержания ВОГ

На рисунке 3.3.2а-в представлены результаты исследований РФЭС пластинок ВОГ, использованных в данной работе для получения гибридных ПОБ скэффолдов. Из представленных результатов видно, что элементный состав ВОГ включает в себя углерод (91 %) и кислород (7 %) (рисунок 3.3.2а). Невысокое содержание остаточного азота (менее 2 %), который используется при получении ВОГ, было также обнаружено. Анализ спектра высокого разрешения для участка C 1s выявил наличие всех типичных полос, соответствующих таким функциональным группам, как C sp^2 , C sp^3 , C-OH, C-O-C, C=O и C-OOH [135, 136]. Для участка O1s также зарегистрированы

типичные полосы ВОГ, как C-O и C=O [135, 136]. Наличие sp^2 -гибридизованного углерода и карбоксильной группы (при $\sim 1150\text{ см}^{-1}$) на поверхности ВОГ подтверждено также с помощью Фурье-ИК спектроскопии (рисунок 3.3.2г).

Таким образом, результаты измерений подтвердили вклад ВОГ в РФЭС-спектры гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов. Наблюдаемые изменения в химии поверхности скэффолдов свидетельствует о наличии частиц ВОГ в поверхностных слоях электроформованных гибридных микроволокон ПОБ. Следует отметить, что чувствительность РФЭС по глубине проникновения в полимерные материалы достигает 10 нм [137].

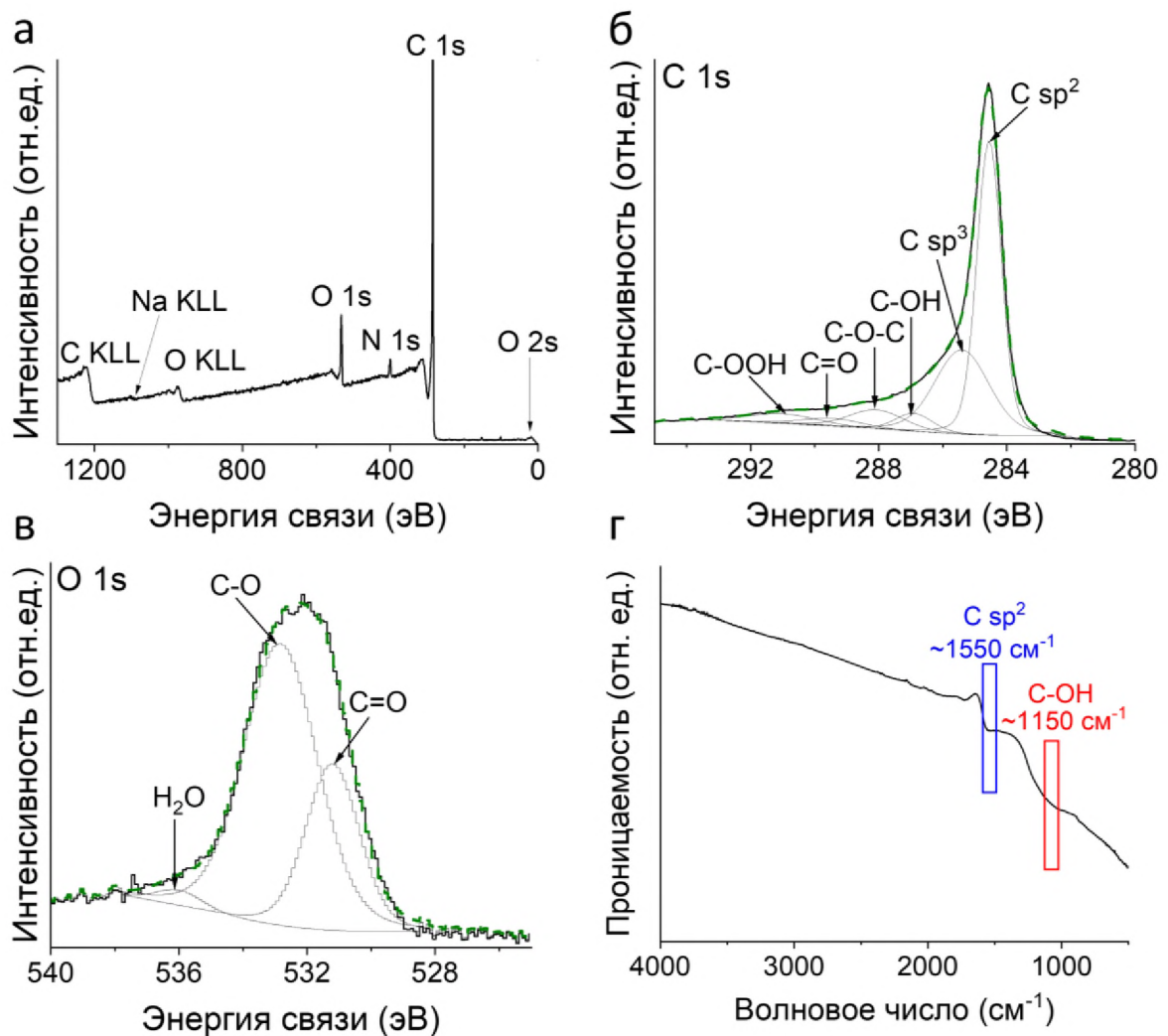


Рисунок 3.3.2 – (а) полный и (б-в) высокого разрешения РФЭС-спектры участков (б) C 1s и (в) O 1s для ВОГ. (г) Фурье-ИК-спектр ВОГ

На рисунке 3.3.1 представлены спектры комбинационного рассеяния света ВОГ, чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов в диапазоне волновых чисел от 200 до 1800 см^{-1} . Анализ результатов измерений позволил подтвердить наличие всех типичных пиков ПОБ от 222 см^{-1} (скручивающая мода CH_3) до 1725 см^{-1} (растягивающая мода $\text{C}=\text{O}$, свойственная кристаллической фазе) [138]. Также установлено наличие двух типичных пиков при $\sim 1350 \text{ см}^{-1}$ и $\sim 1585 \text{ см}^{-1}$ в спектре ВОГ, которые соответствуют D и G полосам, соответственно [139]. Полоса G относится к движению атомов углерода в плоскости, тогда как полоса D относится к наличию краевых или топологических (базальная плоскость) дефектов в пластинках графена. Отношение интенсивностей D/G (I_D/I_G) служит диагностическим инструментом для учета дефектов в материалах на основе графена [139]. Уменьшение отношения I_D/I_G свидетельствует о снижении числа дефектов.

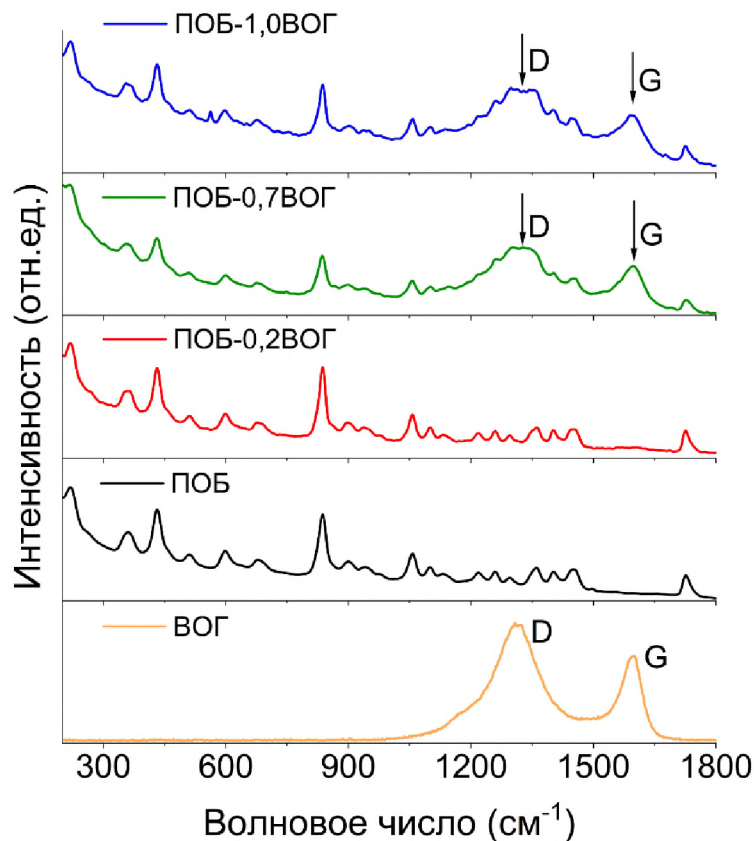


Рисунок 3.3.3 – КРС-спектры ВОГ, чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов

Как видно из представленных КРС-спектров, D и G полосы проявляются в спектре гибридных скэффолдов при содержании ВОГ 0,7 мас.% и 1,0 мас.%. Следует отметить, что отношение I_D/I_G составило 1,36 для используемого ВОГ. Тогда как это значение снизилось до $\sim 1,22$ для гибридных скэффолдов с содержанием ВОГ 0,7 и 1,0 мас.%. Подобное изменение в отношении I_D/I_G наиболее вероятно свидетельствует о наличии взаимодействий ВОГ с полимерными цепями ПОБ, таких как образование водородной между полярными группами в структуре ВОГ и ПОБ или ковалентной связи [140, 141]. Следует отметить, что результаты Фурье-ИК спектроскопии и РФЭС показали наличие функциональной карбоксильной группы на поверхности ВОГ (рисунок 3.3.2). В свою очередь, водородная связь играет важную роль в процессе кристаллизации полимеров [142].

3.4 Феноменологическая модель структурно-фазовых преобразований в электроформованных гибридных ПОБ-ВОГ микроволокнах.

Совокупность полученных результатов исследований позволила обнаружить закономерности, которые легли в основу феноменологической модели, прогнозирующей структурно-фазовые изменения в гибридных электроформованных ПОБ-ВОГ микроволокнах (рисунок 3.4.1). Согласно представленной модели, механизмы формирования микроструктуры гибридных микроволокон можно условно разделить на три случая (области) в зависимости от содержания ВОГ.

Область I. Чистые полукристаллические электроформованные ПОБ микроволокна демонстрируют полиморфизм – в промежутках между случайно ориентированными ламелями (α -фаза, спиралевидная конформация) формируется β -фаза (зигзагообразная конформация, кристаллическая или нанокристаллическая). Рост зигзагообразной конформации в электроформованных ПОБ скэффолдах, вероятно, обусловлен растяжением микроволокон из-за действия центробежных сил при контакте струи полимера с вращающимся цилиндрическим коллектором, когда

растворитель быстро испаряется и происходит кристаллизация. Полученные результаты в диссертационном исследовании подтверждают сделанное заключение и хорошо согласуются с литературными данными, где наблюдается формирование зигзагообразной конформации в форме нанокристаллической мезофазы (размеры ОКР до 4 нм) или кристаллической β -фазы при растяжении полиоксиалканоатов в виде пленок и электроформованных скэффолдов [49, 130, 131].

Область II. Добавление ВОГ (0,7 мас.% и менее) приводит к увеличению содержания β -фазы в микроволокнах ПОБ, что обусловлено встраиванием ВОГ между парными ламелями. Однако, это также вызывает снижение размеров ламелей, о чем свидетельствует зависимость ОКР орторомбической α -фазы от концентрации ВОГ в ПОБ скэффолдах (рисунок 3.2.1б). При этом происходит увеличение содержания аморфной фазы в гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдах по мере увеличения концентрации ВОГ (таблица 3.2.1). Данные структурно-фазовые изменения в гибридных скэффолдах сопровождаются снижением среднего диаметра микроволокон (раздел 3.1), обусловленным увеличением проводимости полимерного раствора и снижением размеров конуса Тейлора в процессе электроформования.

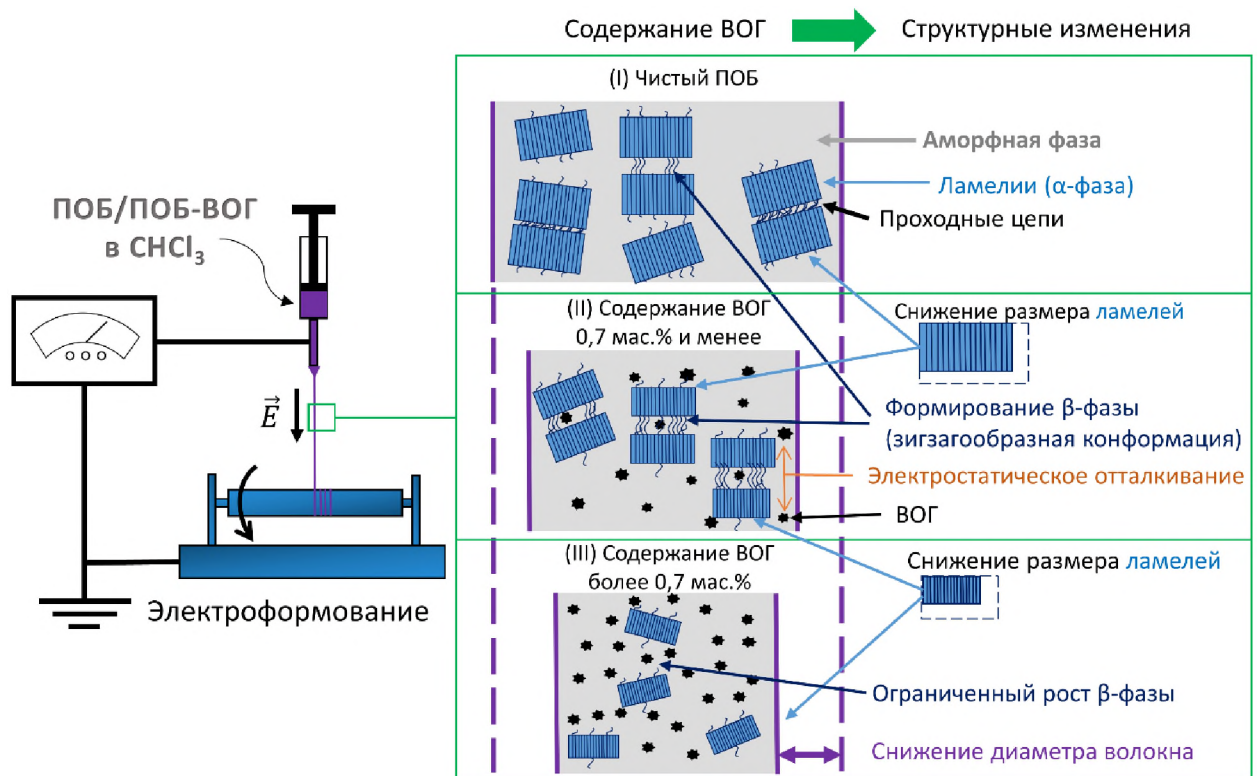


Рисунок 3.4.1 – Феноменологическая модель структурных изменений в гибридных ПОБ-ВОГ микро волокнах в зависимости от содержания ВОГ: (I) чистый ПОБ; (II) $\leq 0,7$ мас.%; (III) $> 0,7$ мас.%.

Область III. При повышении концентрации ВОГ более 0,7 мас.% в ПОБ микро волокнах происходит еще большее снижение их диаметра и увеличение содержания аморфной фазы вследствие уменьшения ОКР орторомбической α -фазы по сравнению с *областью II*. При этом, исследование микроструктуры гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов выявило, что высокая концентрация ВОГ препятствует формированию зигзагообразной конформации (β -фаза) в микро волокнах. Идентичные наблюдения сообщаются в литературе для полимерных композитов на основе не биodeградируемого ПВДФ и ВОГ. Авторы в работе [85] достигли максимального содержания β -фазы при концентрации ВОГ 0,05 мас.% в ПВДФ матрице, что привело к максимальному пьезоэффекту образцов. Однако, увеличение концентрации ВОГ до 0,2 мас.% привело к снижению содержания ВОГ и, как следствие, уменьшению пьезоотклика ПВДФ матрицы.

3.5 Влияние гидролиза на морфологию, состав и микроструктуру чистых и гибридных скэффолдов

Для клинического применения биорезорбируемых скэффолдов, разрабатываемых для регенеративной медицины, необходимо понимание происходящих структурных изменений, вызванных деполимеризацией конструкции при контакте с физиологической средой. Микроструктура и состав скэффолдов определяет эксплуатационные свойства скэффолдов, как поверхностный потенциал, механические и пьезоэлектрические свойства.

На рисунке 3.5.1 представлены РЭМ-изображения поверхности чистых ПОб и гибридных ПОб-ВОб скэффолдов после гидролиза в течение 30 дней. Гидролиз был выполнен в условиях, имитирующих физиологические (буферный раствор), в течение 30 дней. Из представленных результатов видно, что гидролиз разработанных скэффолдов приводит к появлению видимых дефектов в волокнистой структуре, как разрывы и истончения микроволокон. Анализ РЭМ-изображений не выявил разницы в изменениях поверхности между чистыми ПОб и гибридными ПОб-ВОб скэффолдами после их инкубации в буферном растворе в течение 30 дней. Согласно литературе, избирательное расположение наблюдаемых дефектов, вероятно, обусловлено преимущественной деградацией аморфных участков [143]. При этом добавление ВОб не оказало воздействия на скорость гидролиза разработанных скэффолдов. Так значение относительного изменения массы чистых и гибридных скэффолдов уменьшилось на 3-4 % после 30 дней инкубации в буфере.

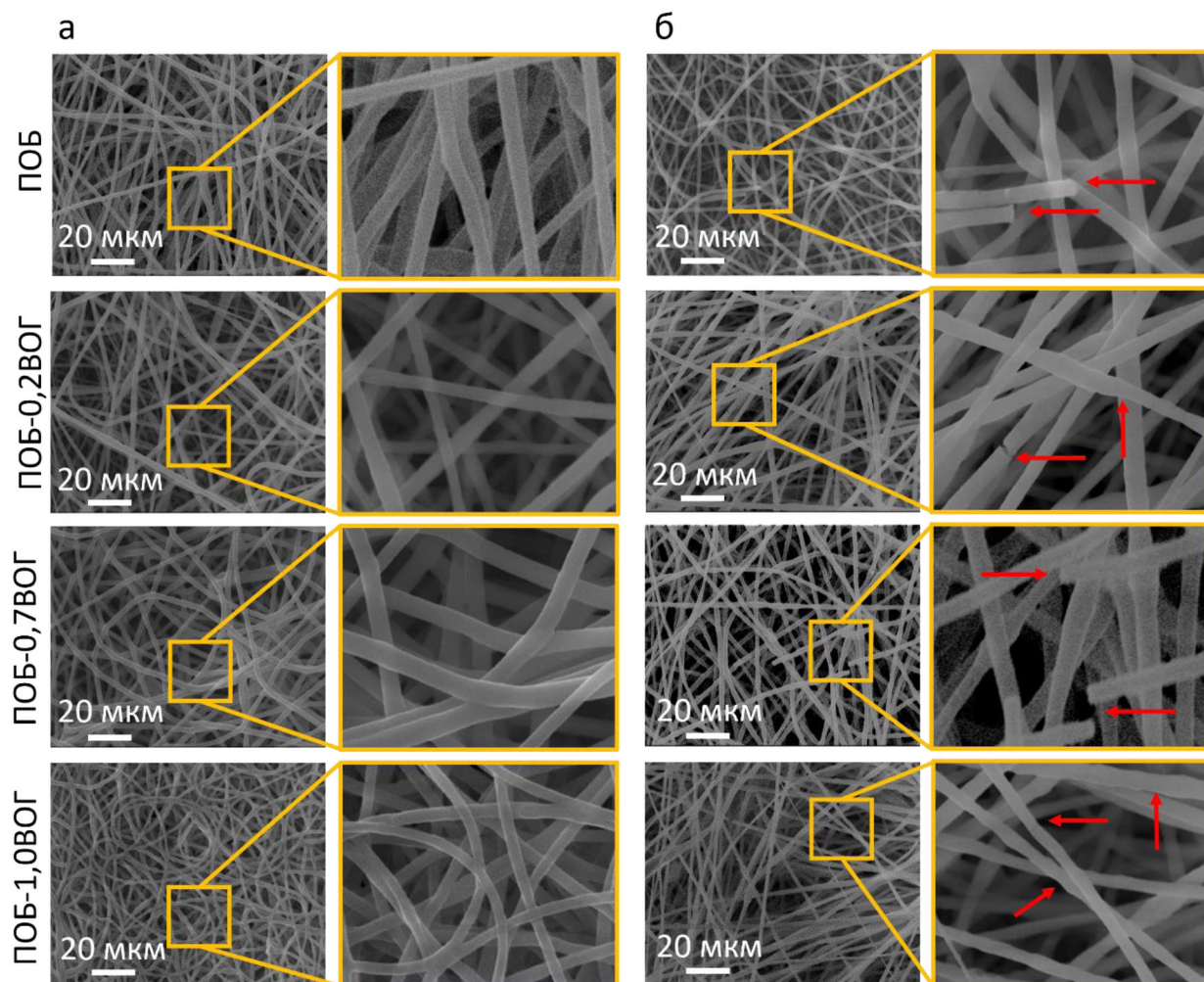


Рисунок 3.5.1 – РЭМ-изображения чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов с различным содержанием ВОГ (а) до и (б) после 30 дней гидролиза. Красные стрелки указывают на дефекты микроволокнистой структуры: разрывы и истончение волокон

Согласно РФА, результаты которого представлены на рисунке 3.5.2, на рентгенограммах чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов после инкубации присутствуют пики характерные для орторомбической кристаллической структуры α -фазы ПОБ (PDF4+ №068-1411) пространственной группы $P2_12_12_1$ ($a=5,76 \text{ \AA}$, $b=13,20 \text{ \AA}$, $c = 5,96 \text{ \AA}$), в частности при $13,4^\circ$ (020), $16,9^\circ$ (110), $21,5^\circ$ (101), $22,4^\circ$ (111), $25,2^\circ$ (031), $25,5^\circ$ (130) и $27,1^\circ$ (040). Изменений в интенсивности и ширине пиков α -фазы после инкубации скэффолдов не обнаружено. Средние значения ОКР для (020) и (110) плоскостей α -фазы ПОБ не изменились после гидролиза и

соответствуют исходным значениям ОКР скэффолдов до инкубации в буфере в течение 30 дней (рисунок 3.2.1б). Следовательно, гидролиз в течение 1 месяца не оказывает влияние на кристаллы ламелей.

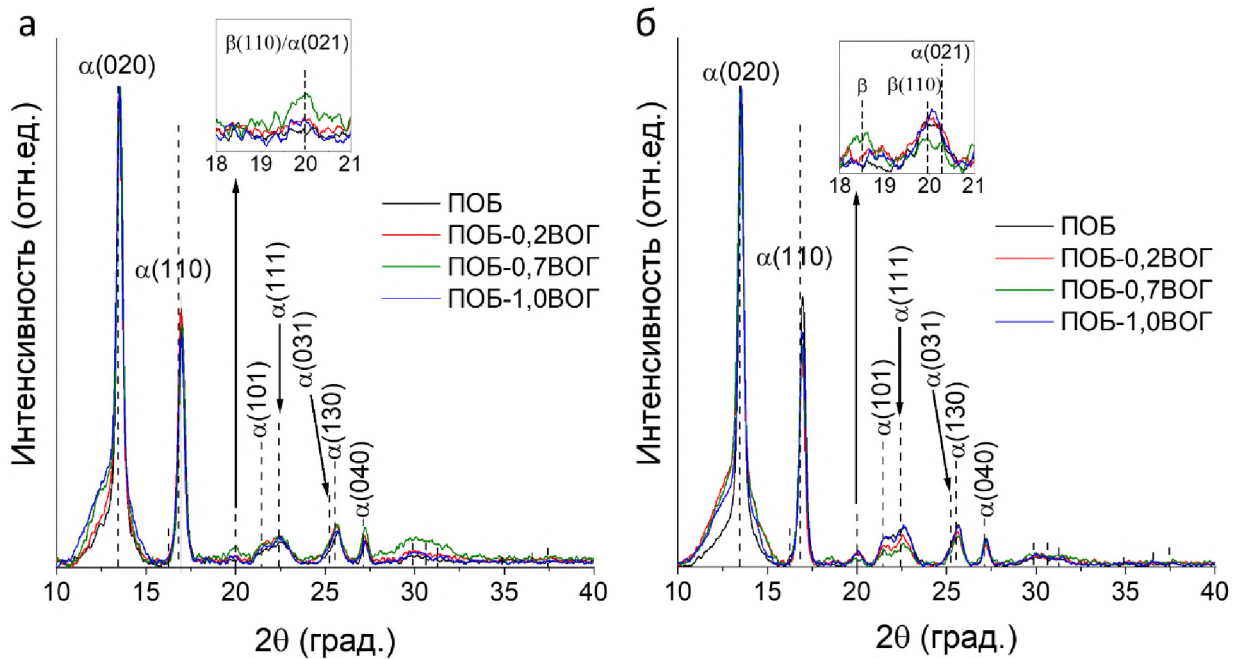


Рисунок 3.5.2 – Нормализованные рентгенограммы гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов (а) до и (б) после 30 дней гидролиза

Сравнение рентгенограмм скэффолдов до и после гидролиза позволяет установить, что в случае добавления 0,7 мас.% ВОГ наблюдается самое высокое содержание β-фазы в микроволокнах ПОБ. Как отмечалось ранее, ПОБ-0,7ВОГ скэффолды демонстрируют самый интенсивный пик при 20° (рисунок 3.5.2а). Интенсивность данного пика также начинает увеличиваться у чистых и гибридных скэффолдов всех составов после гидролиза (рисунок 3.5.2б). Однако, инкубация образцов в буфере привела к появлению нового пика при 18,5°, который соответствует β-фазе [49], только в рентгенограмме гибридных ПОБ-0,7ВОГ скэффолдов. Наблюдаемые изменения в микроструктуре скэффолдов после гидролиза могут быть обусловлены деполимеризацией аморфной фазы [144-146], что приводит к повышению содержания кристаллической фазы в образцах. В свою очередь, деполимеризация не кристаллических концов цепей и проходных молекул,

которые обладают более высокой степенью подвижности [53], облегчает процесс частичной кристаллизации аморфной фазы.

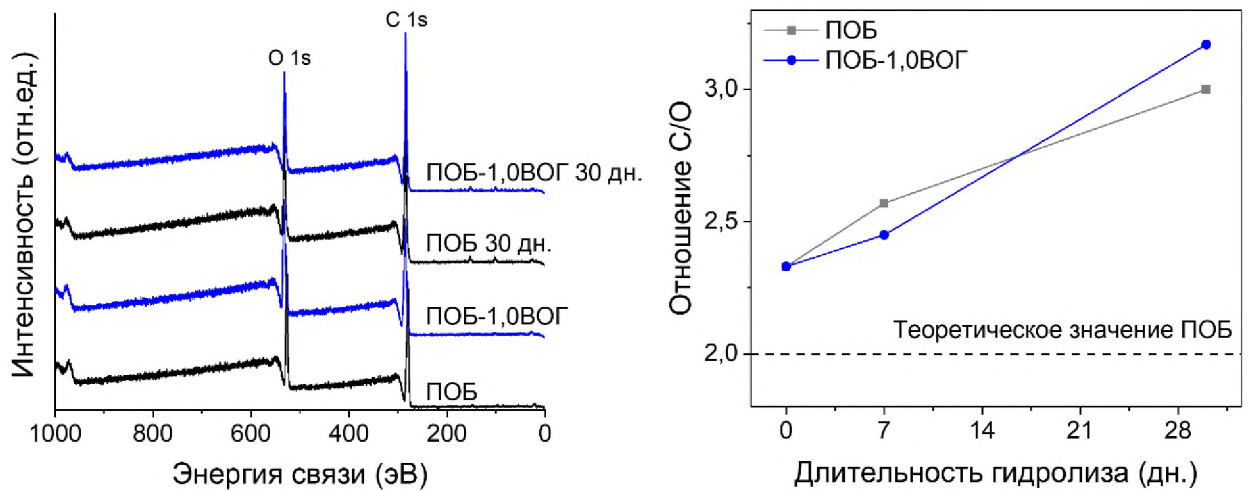


Рисунок 3.5.3 — (а) Обзорные РФЭС-спектр для чистого ПОБ и гибридного ПОБ-1,0ВОГ скэффолдов до и после гидролиза в течение 30 дней. (б) Зависимость отношения углерода к кислороду с поверхности чистых ПОБ и ПОБ-1,0ВОГ скэффолдов от длительности гидролиза

Для исследования влияния ВОГ на изменения химического состава поверхности электроформованных ПОБ микроволокон вследствие их биodeградации были изучены гибридные скэффолды с наибольшим содержанием ВОГ (1,0 мас.%), использованным в данной работе. На рисунке 3.5.3 представлены полные РФЭС-спектры поверхности чистых ПОБ и гибридных ПОБ-1,0ВОГ скэффолдов, а также рассчитанные значения отношения углерода к кислороду в зависимости от длительности инкубации скэффолдов в буфере.

Из представленных результатов видно, что элементный состав поверхности чистых и гибридных скэффолдов, подвергнутых гидролизу в течение 30 дней, не изменился (рисунок 3.5.3а). Это свидетельствует об отсутствии встраивания ионов солей, содержащихся в моделируемой физиологической среде (буфере), в структуру скэффолдов. Однако, взаимодействие моделируемой физиологической среды с поверхностью

скэффолдов в течение 30 дней привело к увеличению отношения С/О с 2,3 до ~3, что свидетельствует о диффузии кислорода из структуры полимера в окружающую среду. При этом следует отметить отсутствие влияния добавления 1,0 мас.% ВОГ на отношение С/О до и после инкубации в буфере. Увеличение отношения С/О свидетельствует о травлении (деполимеризации) поверхности скэффолдов [147, 148]. Полученные результаты согласуются литературными данными, полученными для ПОБ образцов, инкубированных в почву на 1 месяц [149].

ДСК-измерения показали увеличение кристалличности для всех скэффолдов, включая чистые и гибридные. Так после 30 дней гидролиза X_c для чистых ПОБ скэффолдов возросла с 48 % до 51 %, а в случае ПОБ-1,0ВОГ с 44 % до 49 %.

Таким образом, анализ результатов РФЭС и ДСК позволил подтвердить деполимеризацию полимерных цепей вследствие гидролиза электроформованных чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов. В свою очередь, согласно РЭМ-изображениям, деполимеризация аморфной фазы ПОБ, вызванная гидролизом в течение 30 дней, приводит к появлению поверхностных дефектов скэффолдов, как разрывы и истончения чистых и гибридных микроволокон. Однако, изменение в соотношении аморфной и кристаллической фаз позволяет детектировать более слабые дифракционные пики, соответствующие электроактивной β -фазе. Следовательно, ПОБ скэффолды способны обеспечить более высокий пьезоэлектрический отклик вследствие биodeградации в течение эксплуатации изделия, имплантированного в организм, что позволит обеспечить более высокую и эффективную регенерацию поврежденных тканей.

3.6 Выводы по главе 3

1) Добавление ВОГ до 1,0 мас.% не оказывает влияния на микроволокнистую структуру электроформованных ПОБ скэффолдов и приводит к снижению среднего диаметра их микроволокон с $2,1 \pm 0,4$ мкм до $1,5 \pm 0,3$ мкм.

2) Установлено увеличение содержания аморфной фазы вследствие снижения размеров ламелей (α -фаза) в гибридных ПОБ скэффолдах по мере увеличения содержания ВОГ. При этом показано повышение содержания электроактивной β -фазы в гибридных скэффолдах при добавлении 0,7 мас.% ВОГ.

3) Выявлено изменение в молекулярном составе поверхности ПОБ скэффолдов при добавлении ВОГ в полимерную матрицу. Установлено взаимодействие ВОГ с полимерными цепями ПОБ – образование водородной связи.

4) Разработана феноменологическая модель, описывающая структур-фазовые преобразования в гибридных микроволокнистых ПОБ скэффолдах в зависимости от содержания ВОГ.

5) Показано, что гидролиз электроформованных ПОБ скэффолдов в течение 30 дней в физиологических условиях приводит к деполимеризации аморфной фазы. Добавление ВОГ до 1,0 мас.% не оказывает влияния на структурно-фазовые изменения гибридных ПОБ скэффолдов, обусловленных гидролизом.

Глава 4. Исследование физико-механических свойств, пьезоотклика и распределения поверхностного потенциала гибридных микроволокон

4.1 Механические свойства гибридных скэффолдов

Для оценки влияния ВОГ на механические свойства электроформованных ПОБ скэффолдов эксперименты были выполнены с помощью разрывной машины. На рисунке 4.1.1 показана зависимость данных механических испытаний гибридных скэффолдов от массовой доли содержания ВОГ.

Анализ результатов механических испытаний на разрыв позволил выявить отсутствие влияния содержания ВОГ до 1 мас.% на относительное удлинение гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов (рисунок 4.4.1а). Среднее значение относительного удлинения для всех скэффолдов, разработанных в рамках исследования, находится в диапазоне 6-12 %.

Однако, добавление ВОГ привело к снижению предела прочности и модуля Юнга ПОБ скэффолдов. Из представленных результатов видно, что предел прочности микроволокнистых ПОБ скэффолдов снижается с $2,50 \pm 0,20$ МПа до $1,85 \pm 0,17$ МПа при добавлении 1,0 мас.% ВОГ (рисунок 4.4.1б). При этом идентичное содержание ВОГ приводит к снижению модуля Юнга ПОБ скэффолдов с $128,7 \pm 1,3$ МПа до $80,6 \pm 13,5$ МПа (рисунок 4.4.1в).

Изменение механических свойств в случае гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов по мере повышения концентрации ВОГ в полимерной матрице можно обосновать рядом факторов:

- увеличение содержания аморфной фазы (таблица 3.2.1);
- снижением размеров ОКР α -фазы (рисунок 3.2.1б);
- перераспределение нагрузки, предполагающее переход напряжения от полимерной матрицы на наполнитель через межфазную границу [150];
- распределение наполнителя в полимерной матрице [151].

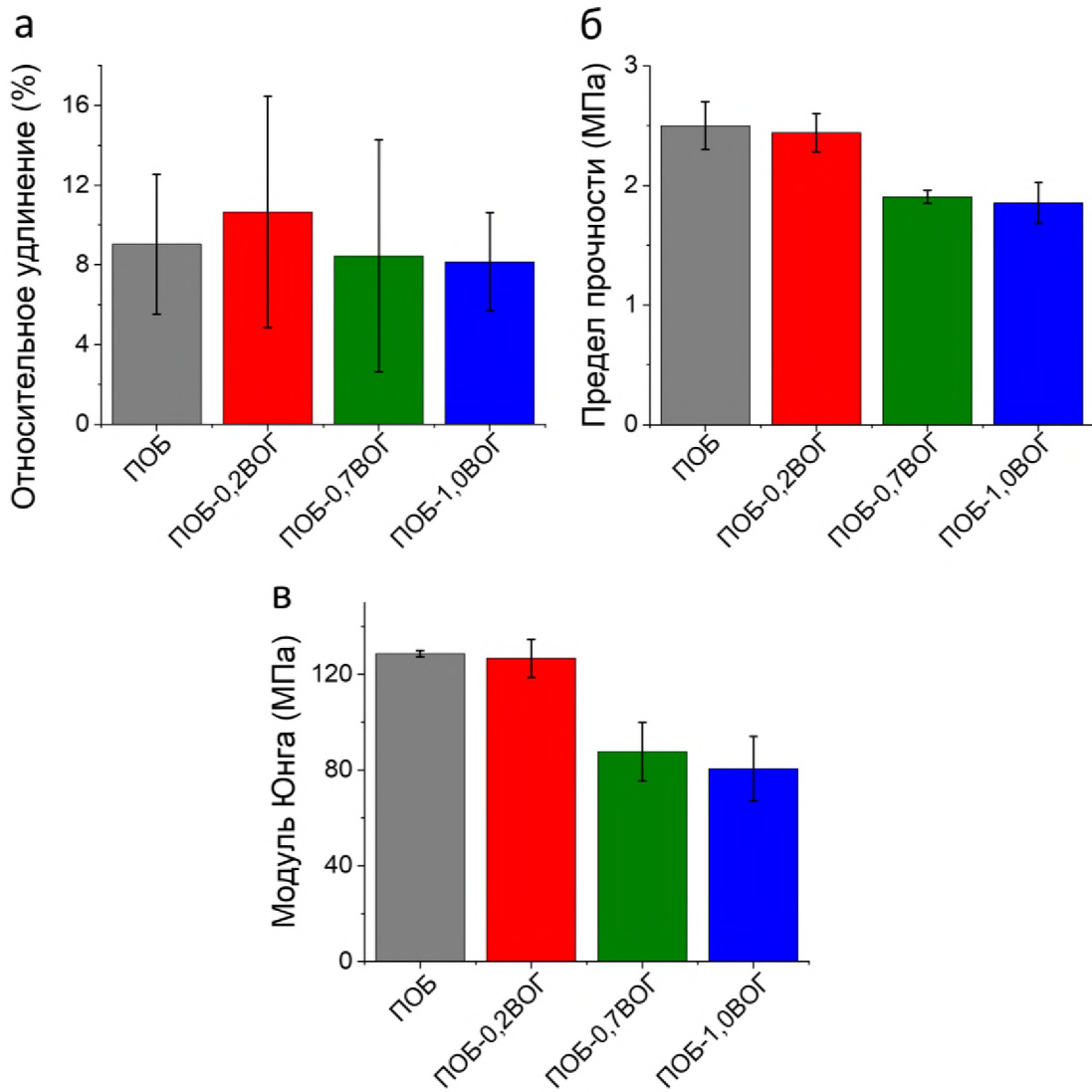


Рисунок 4.1.1 — Механические характеристики гибридных ПОБ скэффолдов, содержащих ВОГ: (а) относительное удлинение, (б) предел прочности на разрыв и (в) модуль Юнга

Как правило, в случае других полукристаллических ПОА таких, как полимолочная кислота или поликапролактон, происходит повышение механических характеристик конструкций, как модуль Юнга и предел прочности, вследствие повышения их степени кристалличности из-за добавления наполнителя, который играет роль центров кристаллизации. Однако, увеличение степени кристалличности (снижение аморфной фазы) приводит к снижению пластичности полимерных конструкций и, следовательно, уменьшению их удлинения до разрыва [152, 153]. В свою очередь, ПОБ скэффолды изначально обладают более высокой степенью

кристалличности по сравнению с другими полиоксиалканоатами. Поэтому в случае ПОб добавление ВОГ приводит к обратному эффекту – снижению степени кристалличности (таблица 3.2.1). Более того, установлено снижение ОКР α -фазы ПОб в случае гибридных скэффолдов (рисунок 3.2.1б), что свидетельствует об уменьшении размеров ламелей. Таким образом, наблюдается снижение модуля Юнга и предела прочности на разрыв в случае гибридных ПОб-ВОГ скэффолдов.

Несмотря на повышение содержания аморфной фазы, гибридные скэффолды демонстрируют близкие значения относительного удлинения на разрыв с чистыми ПОб скэффолдами. Графен и материалы на его основе, как ВОГ, обладают уникальными механическими характеристиками [154], которые на порядки могут превосходить свойства полимеров. Поэтому частицы ВОГ могут играть роль центров концентрации напряжения внутри полимерной матрицы вследствие перераспределения механического напряжения [150]. Согласно литературным данным, выделяют три механизма переноса механической нагрузки от полимерной матрицы к наполнителю: микромеханические взаимодействия, формирование химических связей между полимером и наполнителем, дисперсионные неспецифические взаимодействия (силы Ван-дер-Ваальса) между матрицей и наполнителем [155]. Не менее важным является и распределение наполнителя в полимерной матрице, т.к. агломерация может оказывать влияние на снижение прочностных характеристик на разрыв вследствие локализации стресса [151]. Таким образом, повышение содержания аморфной фазы и снижение размеров ламелей приводит к снижению прочностных механических характеристик, а частицы ВОГ и их агломерация играют роль центров концентрации напряжения, что препятствуют увеличению удлинения гибридных скэффолдов.

Механические свойства костной ткани человека на растяжение представлены в литературе. Так Goldstein и др. изучили механические свойства трабекулярной кости, значения которой изменяются в два раза (1-13

МПа) в зависимости от областей, несущих нагрузку в костной ткани [156]. Диапазон механической прочности для большеберцовой кости находится в пределах 0,2-6,7 МПа [157]. Behrens продемонстрировал, что прочность губчатых костей варьируется в диапазоне от 1,8 МПа до 63,6 МПа [158]. Основываясь на результатах механических испытаний, полученных в диссертационном исследовании, а также их сравнении с литературными данными позволяют сделать вывод о том, что разработка электроформованных микроволокнистых композитных скэффолдов на основе ПОБ и ВОГ является перспективным направлением в области лечения костных тканей.

4.2 Влияние ВОГ на поверхностный потенциал и свободную поверхностную энергию ПОБ микроволокон

Несмотря на перспективы применения пьезоэлектрической стимуляции для регенерации тканей [159], в определенных клинических случаях нет возможности постоянно оказывать механическое воздействие на травмированный участок, который был частично или полностью замещен имплантируемым пьезоматериалом. При этом поверхностный заряд является одним из ключевых параметров, влияющий на смачиваемость скэффолдов и определяющий их эффективность взаимодействия с жидкостями, протеинами и клетками организма. Поэтому исследование поверхностного потенциала разрабатываемых скэффолдов является важным для материаловедения и физики конденсированного состояния.

На рисунке 4.2.1 представлены 4-Д изображения СЗМ, содержащие 3-Д АСМ-изображение топографии и КЗСМ-картирование распределения поверхностного потенциала композитных ПОБ-ВОГ микроволокон, а также соответствующие профили рельефа волокна (топографии) и поверхностного потенциала в местах, отмеченных линиями. Как видно из представленных изображений, в случае чистых ПОБ микроволокон поверхностный потенциал распределен не равномерно вдоль волокон с более высокими значениями на

краях волокна по сравнению с центральной частью. Тогда как по мере увеличения концентрации ВОГ наблюдается более равномерное распределение поверхностного потенциала и его значительное усиление на поверхности гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон.

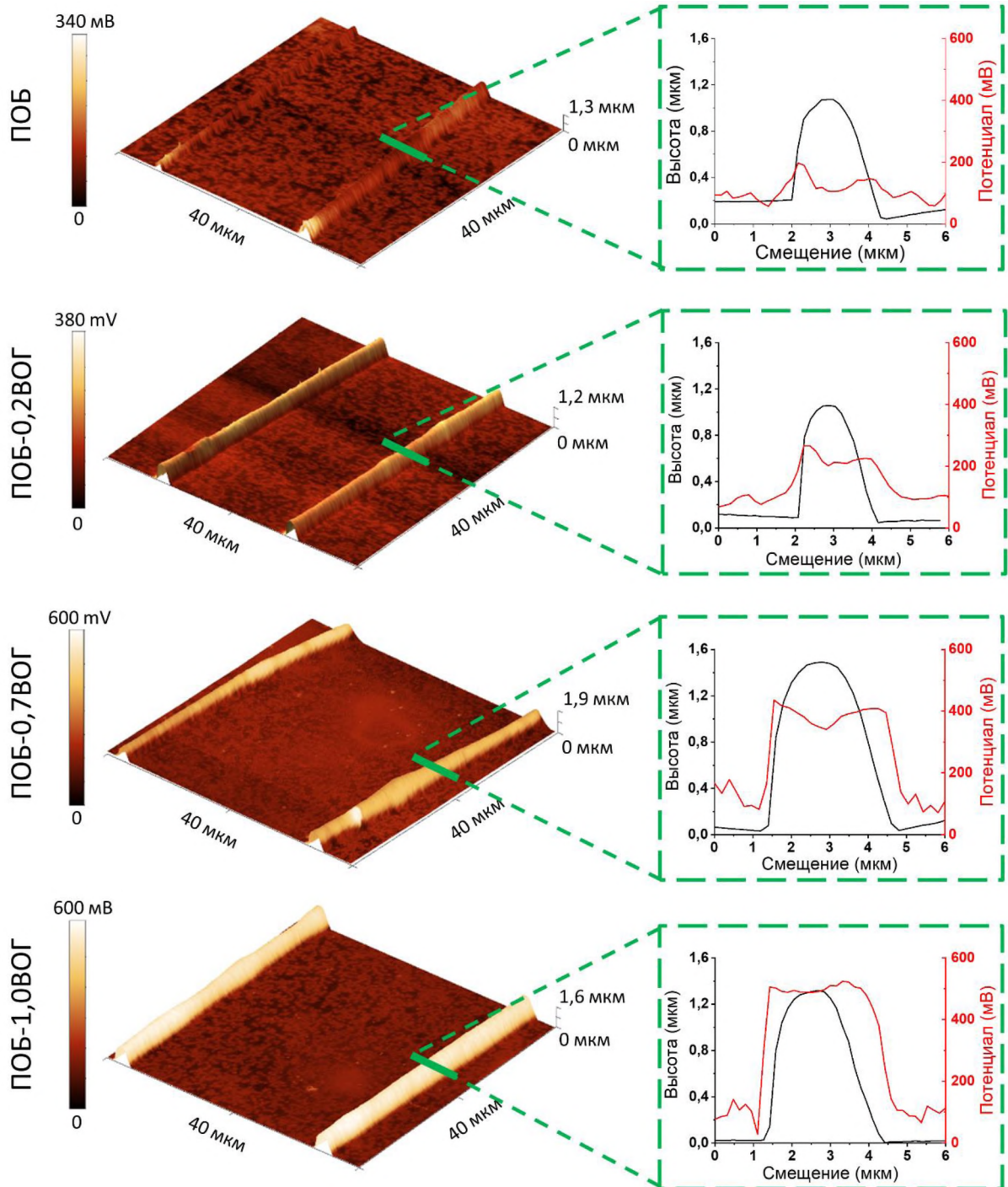


Рисунок 4.2.1 — 3-Д АСМ-изображения композитных микроволокон, содержащие картирование КЗСМ распределения потенциала. Приведенные профили рельефа микроволокон и их поверхностного потенциала получены вдоль линий, обозначенных на 3-Д АСМ изображениях

Установлено, что добавление 1,0 мас.% ВОГ приводит к увеличению среднего значения поверхностного потенциала ПОВ микроволокон в 9,5 раз с 33 ± 29 мВ до 314 ± 31 мВ (рисунок 4.2.2а). Увеличение поверхностного потенциала микроволокон, вероятно, обусловлено влиянием ВОГ на молекулярный состав поверхности скэффолдов. Потенциал поверхности оксида графена варьируется в широких пределах от десятков до сотен мВ в зависимости от концентрации таких полярных групп на его поверхности, как карбоксильная или гидроксильная группы, что обусловлено степенью его окисления, т.е. параметрами получения [160, 161]. Анализ результатов РФЭС позволил выявить наличие ВОГ в поверхностных слоях микроволокон, что привело к увеличению содержания полярных C=O функциональных групп на поверхности гибридных ПОВ-ВОГ скэффолдов (рисунок 3.3.1). На основании полученных результатов РФЭС и КЗСМ можно предположить, что частицы ВОГ электростатически притягиваются к поверхности волокна во внешнем электрическом поле во время электроформования скэффолдов, как показано на рисунке 4.2.2б.

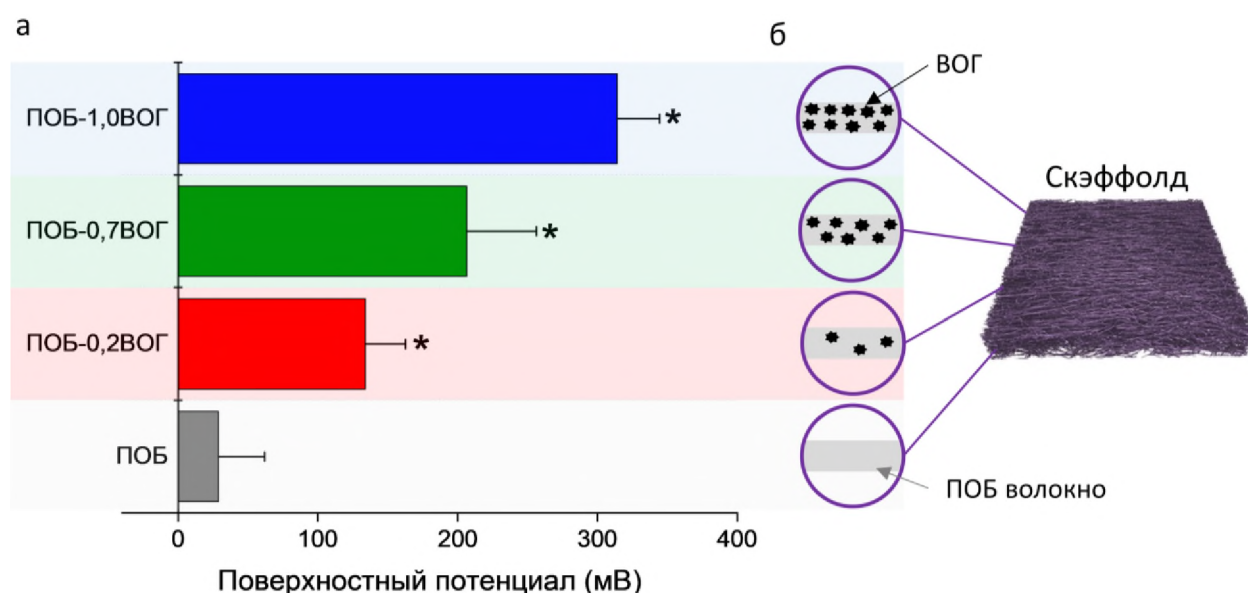


Рисунок 4.2.2 — (а) Средние значения поверхностного потенциала чистых ПОВ и гибридных ПОВ-ВОГ микроволокон. (б) Схематическое изображение распределения ВОГ около поверхности гибридных микроволокон в зависимости от его концентрации

Одним из наиболее важных факторов, определяющих смачиваемость поверхности материалов, является заряд поверхности, который увеличивается в композитных ПОБ-ВОГ скэффолдах (рисунок 4.2.2а). Для исследования смачиваемости поверхности и расчетов СПЭ композитных скэффолдов были определены краевые углы смачивания тестовыми жидкостями. На рисунке 4.2.3 представлены зависимости краевого угла смачивания и СПЭ от содержания ВОГ в ПОБ скэффолдах.

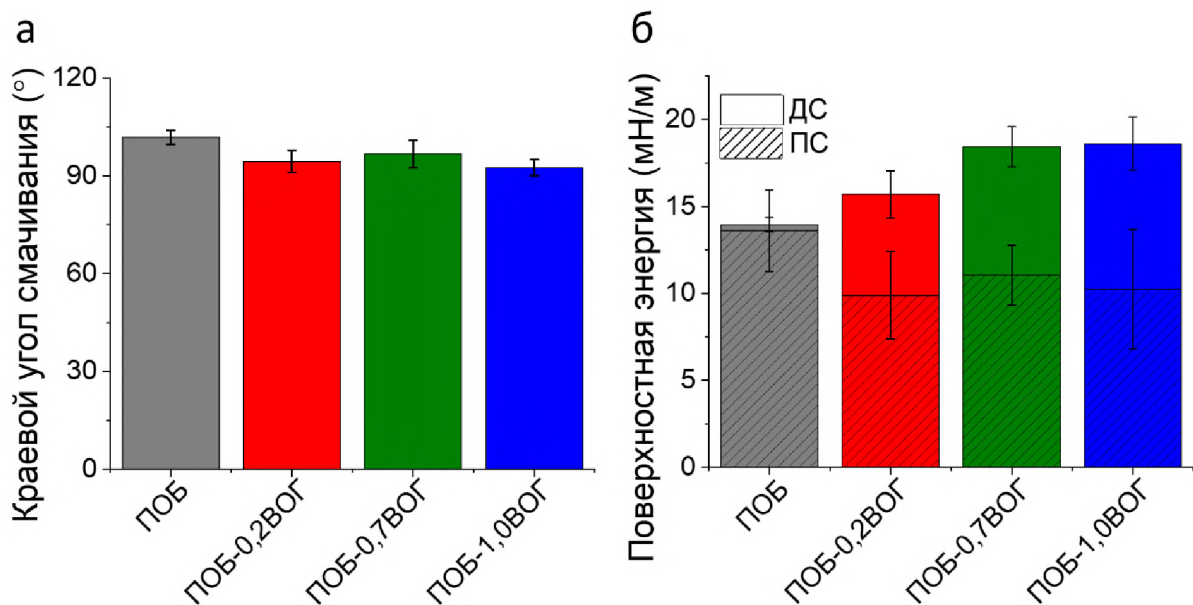


Рисунок 4.2.3 — (а) Краевой угол смачивания и (б) СПЭ чистых и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов: ДП – дисперсная составляющая, ПС – полярная составляющая

Из представленных результатов видно, что электроформованные микроволокнистые ПОБ скэффолды являются гидрофобными (КУ более 90° [162]), т.к. среднее значение их водного КУ смачивания составило $101,9 \pm 2,2^\circ$ (рисунок 4.2.3а). Добавление и увеличение концентрации ВОГ приводит к улучшению смачиваемости скэффолдов. Так значения КУ композитных ПОБ скэффолдов снизилось с $101,9 \pm 2,2^\circ$ до $92,5 \pm 2,4^\circ$ при добавлении 1,0 мас.% ВОГ. Данные изменения в значениях КУ скэффолдов обусловлены увеличением СПЭ, рассчитанной с применением трех жидкостей (вода,

этиленгликоль и глицерин) согласно методу ОВРК (раздел 2.3.7). Значения СПЭ ПОб скэффолдов возросли с $13,9 \pm 2,8$ мН/м до $17,2 \pm 5,8$ мН/м при добавлении 1,0 мас.% ВОГ (рисунок 4.2.3б). Анализ результатов показал, что наибольший вклад в увеличение СПЭ гибридных скэффолдов вносит дисперсионная составляющая, которая зависит от ван-дер-ваальсовых взаимодействий [163]. При этом КЗСМ-измерения подтвердили существенное увеличение поверхностного потенциала в случае композитных ПОб-ВОГ скэффолдов по сравнению с чистым ПОб.

Таким образом, в рамках диссертационного исследования показано, что добавление ВОГ приводит к увеличению поверхностного потенциала, обусловленному изменением химического состава поверхности, и улучшению смачиваемости поверхности ПОб скэффолдов, вызванному повышением СПЭ.

4.3 Пьезоотклик гибридных микроволокон

Метод ПСМ позволяет изучать пьезоэлектрический отклик материалов на наноуровне, анализировать распределение поляризации в отдельных доменах путем обнаружения их механических колебаний в ответ на приложенное переменное напряжение [164]. Для получения подробной информации о пространственном расположении поляризации было выполнено комплексное измерение вертикального и латерального ПСМ-сигналов от единичных микроволокон ПОб-ВОГ. Контрастные яркие и темные области в картах фазы отображают направления поляризации вниз и вверх, соответственно.

На рисунке 4.3.1 представлены ПСМ-изображения распределения амплитуды и фазы вертикального и латерального пьезоотклика композитных микроволокон. На поверхности микроволокон всех составов наблюдается множество пьезоактивных участков (доменов), размеры которых варьируются от десятков до сотен нанометров. Домены представляют собой участки с одинаковым направлением спонтанной поляризации [165].

Наличие ярко-темных контрастных областей в фазовых изображениях вертикального и латерального сигналов ПСМ позволяет судить о наличии доменов с противоположными направлениями поляризации. При этом разработанные микроволокна демонстрируют более четкий контраст в фазовых изображениях вертикального ПСМ-сигнала по сравнению с латеральным.

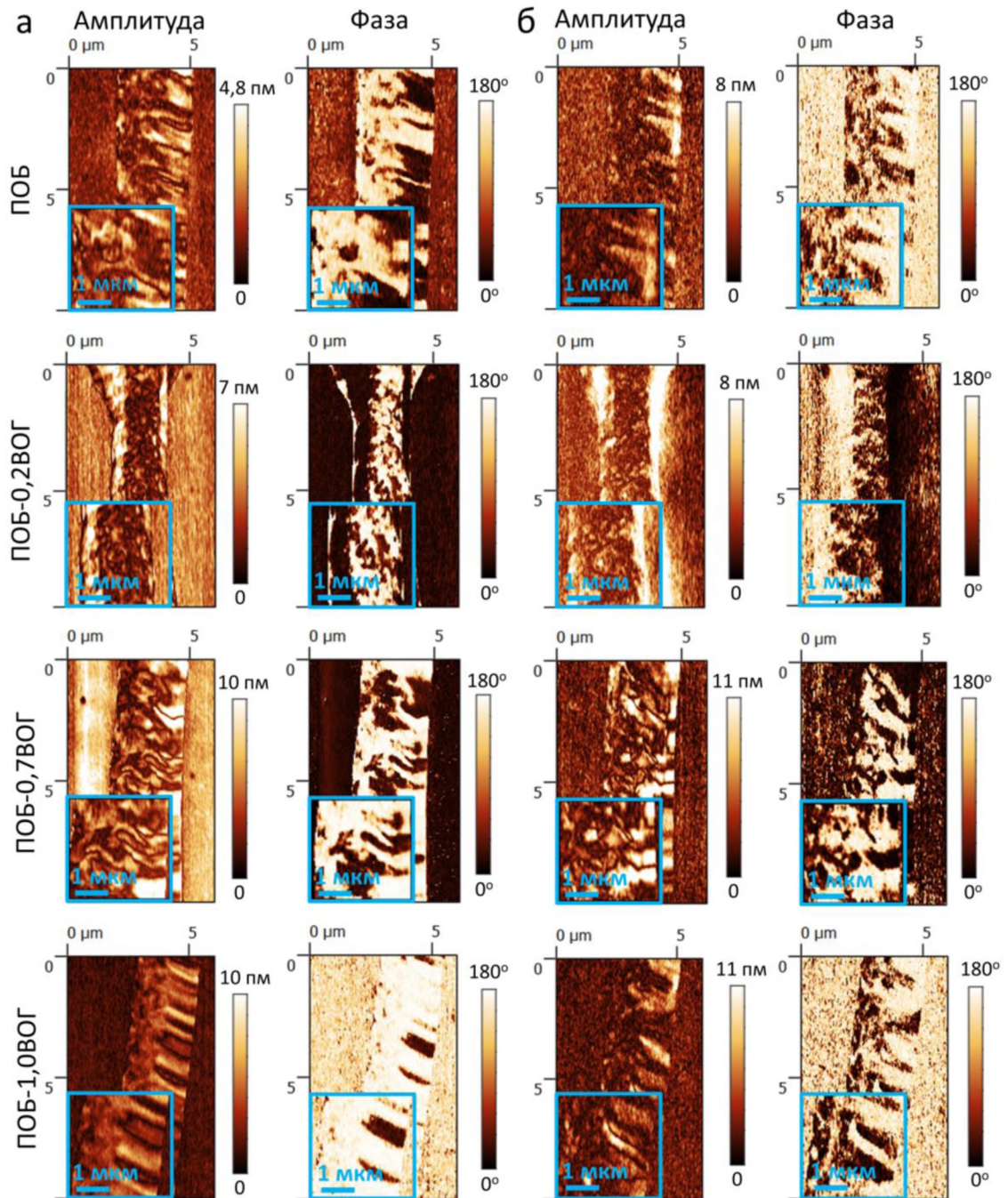


Рисунок 4.3.1 — ПСМ-изображения амплитуды и фазы: (а) вертикальный и (б) латеральный сигнал ПСМ. (в-г) Относительное распределение (в)

вертикальной и (г) латеральной фазы ПСМ с поверхности чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон

Анализ относительного фазового распределения подтвердил наличие двух противоположно поляризованных состояний пьезоактивных доменов (рисунок 4.3.2). В работах [164, 166] также показано наличие аналогичного полидоменного состояния для вертикальных и латеральных компонент пьезоотклика пленок на основе поли(винилиденфторид)-трифторэтиленовых.

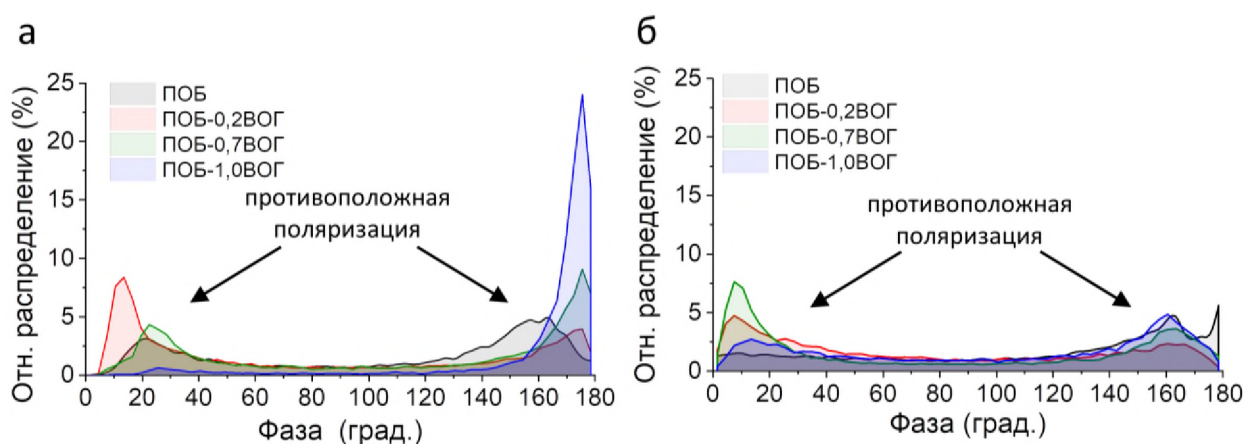


Рисунок 4.3.2 — Относительное распределение (в) вертикальной и (г) латеральной фазы ПСМ с поверхности чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон

Также из результатов ПСМ видно, что микроволокна демонстрируют линейную зависимость амплитуды от напряжения (рисунок 4.3.3), что подтверждает природу пьезоэлектрического эффекта, т.к. электрострикция имеет квадратичную зависимость деформации от прикладываемого внешнего поля [27]. Латеральная компонента пьезоотклика микроволокон обусловлена наличием орторомбической α -фазы ПОБ пространственной группы $P2_12_12_1$ [54, 129], для которой свойственны только сдвиговые пьезоэлектрические коэффициенты, такие как d_{14} , d_{25} , d_{36} [100]. В свою очередь, вертикальная компонента пьезоотклика микроволокон наиболее вероятно представлена зигзагообразной конформацией (β -фаза) ПОБ, имеющей гексогональную

упаковку с пространственной группой $P3_21$ [49], для которой свойственны не только сдвиговые (d_{14} , d_{25} , d_{26}) и сгибающие (d_{12}) пьезоэлектрические коэффициенты, но также и нормальный (d_{11}) [100]. Также в вертикальный ПСМ-отклик могут вносить вклад искажающий эффект искривления балки зонда («баклинг») [167] и случайно ориентированные ламели (α -фазы).

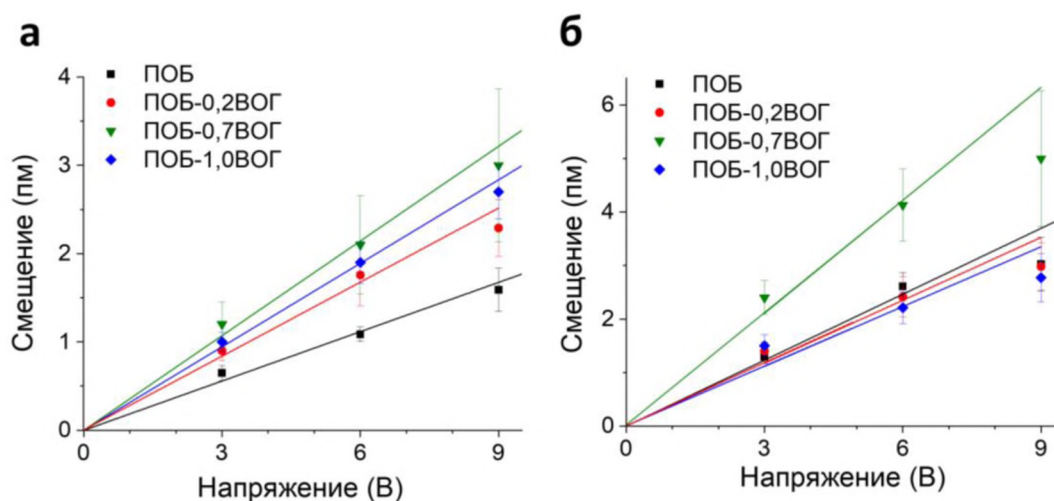


Рисунок 4.3.3 — Зависимость (а) вертикального и (б) латерального смещения (амплитуды) ПСМ сигнала от прикладываемого переменного напряжения к чистым ПОБ и композитным ПОБ-ВОГ микроволоконкам

На рисунке 4.3.4 представлены средние значения вертикальной и латеральной компонент локального эффективного пьезоотклика композитных микроволокон. Среднее значение вертикальной и латеральной компонент пьезоотклика электроформованных ПОБ микроволокон составило $0,18 \pm 0,04$ пм/В и $0,34 \pm 0,03$ пм/В, соответственно. Добавление ВОГ до 1,0 мас.% привело к существенному усилению пьезоотклика ПОБ микроволокон. Максимальные значения пьезоотклика композитных микроволокон достигнуто при 0,7 мас.% содержание ВОГ. Так среднее значение вертикальной и латеральной компонент ПСМ сигнала гибридных ПОБ-0,7ВОГ микроволокон составило $0,45 \pm 0,08$ пм/В и $0,56 \pm 0,12$ пм/В, соответственно.

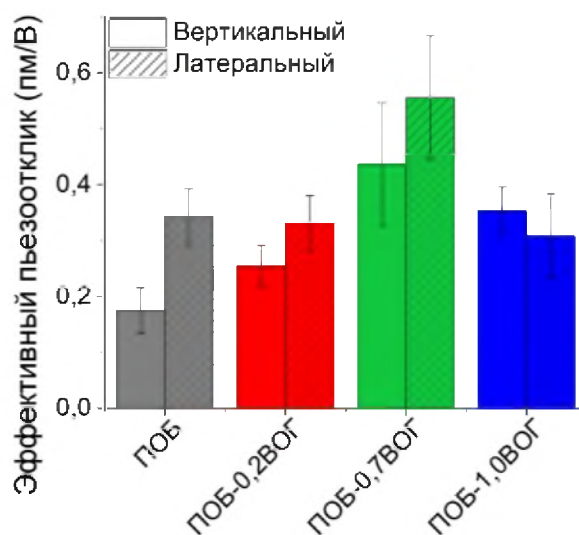


Рисунок 4.3.4 — Гистограмма средних значений локального эффективного вертикального и латерального пьезоотклика для гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон

Согласно анализу относительного распределения амплитуды сигнала ПСМ, ПОБ-0,7ВОГ микроволокна имеют больше доменов с более сильным пьезооткликом (рисунок 4.3.5). Например, только ~1% площади поверхности чистых ПОБ микроволокон показал вертикальную амплитуду ПСМ-сигнала более 5 пм (0,56 пм/В), а у гибридных ПОБ-0,7ВОГ микроволокон около 30 % (рисунок 4.3.5а). Идентичная картина наблюдается и в случае распределения латеральной амплитуды ПСМ, где площадь поверхности ПОБ-0,7ВОГ микроволокон с амплитудой более 6 пм (0,67 пм/В) составляет 25 %, а у чистых ПОБ микроволокон 7 % (рисунок 4.3.5б). Данная разница в количестве пьезоактивных участков между чистыми ПОБ и гибридными ПОБ-0,7ВОГ микроволокнами наглядно показана на ПСМ-изображениях амплитуды, вставленных в кривые относительного распределения пьезооткликов (рисунок 4.3.5).

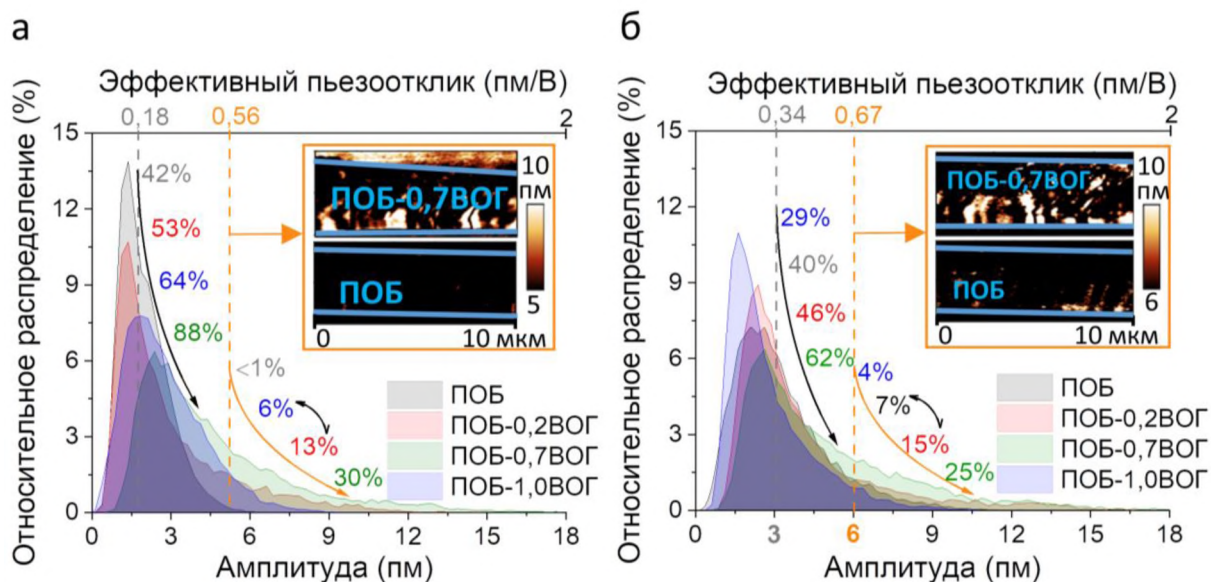


Рисунок 4.3.5 — Относительное распределение (б) вертикальной и (в) латеральной амплитуды ПСМ с поверхности чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон при напряжении 9 В

Достигнутое максимальное усиление пьезоотклика ПОБ микроволокон при 0,7 мас.% содержании ВОГ обусловлено более высоким содержанием электроактивной β -фазы (раздел 3.2). Помимо этого, эффективность применения ВОГ для улучшения пьезосвойств полимеров может быть также обусловлена: 1) агломерация ВОГ приводит к формированию микроконденсаторов внутри полимерных волокон, что определяет изменение диэлектрической проницаемости композита [168]; 2) диполь-диполь взаимодействия между ВОГ и полимером [169]. Анализ результатов РФЭС и спектроскопии КРС установил наличие частиц ВОГ вблизи поверхности микроволокон и их возможность взаимодействия с полимерной матрицей (раздел 3.3).

Снижение амплитуды сигнала ПСМ при повышении содержания ВОГ до 1,0 мас.% может быть вызвано такими изменениями микроструктуры композитных микроволокон, как увеличение содержания аморфной фазы, уменьшение размеров ламелей и снижение содержания β -фазы. Анализ дифрактограмм и расчет параметров ОКР α -фазы подтвердил снижение интенсивности пиков β -фазы и размеров кристаллитов α -фазы,

соответственно. ДСК позволила также выявить снижение степени кристалличности композитных скэффолдов (раздел 3.2).

4.4 Модель пьезоотклика ПОБ микроволокон на основе α -фазы

Кристаллическая структура зигзагообразной конформации (β -фаза) ПОБ, наличие которой подтверждено в разработанных композитных ПОБ-ВОГ скэффолдах (раздел 3.2), является слабо изученной и требует проведения дополнительных исследований. Согласно результатам исследования и моделирования, опубликованными Phongtamrug и Tashiro [31], β -фаза ПОБ имеет гексагональную элементарную ячейку пространственной группы P_321 . Perret и другие утверждают, что зигзагообразная конформация ПОБ не является кристаллической и представляет собой мезофазу P_{nc} – нанокристаллиты размера около 4 нм, которая может кристаллизоваться в орторомбическую α -фазу при периодическом растяжении [33, 34]. В свою очередь, содержание α -фазы в ПОБ является преобладающим, а ее кристаллическая структура хорошо изучена. Следовательно, пьезоэлектрический отклик хорошо изученной α -фазы ПОБ можно количественно оценить и визуализировать с помощью компьютерного моделирования с использованием МКЭ. Такое моделирование является перспективным для интерпретации результатов и разработки скэффолдов на основе ПОБ.

В настоящей работе была использована орторомбическая форма (пространственная группа $P2_12_12_1$) α -фазы ПОБ, содержащая 48 атомов (рисунок 4.4.1). В качестве исходной элементарной ячейки использовали структуру, данные которой опубликованы ранее в работе [170].

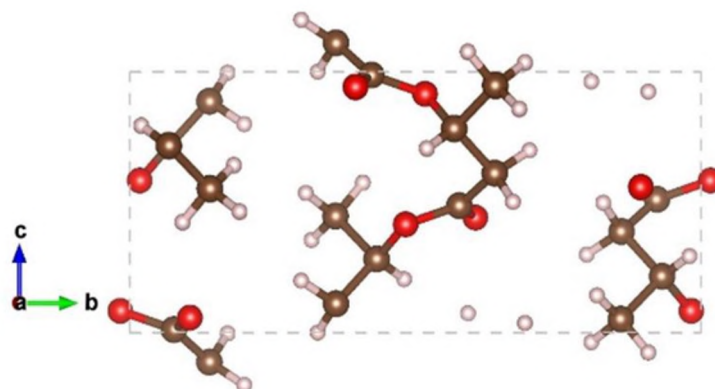


Рисунок 4.4.1 — Схематическое представление элементарной орторомбической ячейки ($P2_12_12_1$) α -фазы ПОБ, содержащая 48 атомов: О – красный, С – коричневый, Н – белый

Первый этап моделирования свойств состоял в оптимизации относительных позиций атомов и параметров решётки: определение минимального объёма и полной энергии структуры. Оптимизированные параметры элементарной решетки α -фазы ПОБ приведены в таблице 4.4.1 вместе с ранее опубликованными результатами других исследований [170]. Видно, что результаты диссертационного исследования находятся в хорошем согласовании с исследованиями других авторов, что свидетельствует о надёжности использованных псевдопотенциалов. Расхождение результатов не превышает 2 %. Тем не менее, из литературы известно, что переоценка структурных параметров характерна для первопринципных расчетов с помощью использования обменно-корреляционного функционала PBE [171-173].

Таблица 4.4.1. Рассчитанные параметры элементарной решетки орторомбической α -фазы ПОБ пространственной группы $P2_12_12_1$. Сравнение полученных результатов с литературными данными.

	$a, \text{Å}$	$b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$	$\rho, \text{г/см}^3$
Настоящая работа	5,86	13,40	6,05	475,21	1,20
Литература [170]	5,76	13,20	5,96	453,17	1,26

Для оптимизированной кристаллической ячейки орторомбической α -фазы ПОБ были рассчитаны физико-механические свойства такие, как модуль Юнга ($E = 7,92$ ГПа), объемный модуль упругости ($K = 6,35$ ГПа) и модуль сдвига ($G = 3,07$ ГПа), значения которых хорошо согласуются с литературными данными [174]. Далее с помощью выполнения шести конечных искажений решетки и получения постоянных упругости из соотношения «деформация-напряжение» были рассчитаны компоненты матрицы жесткости C_{ij} (ГПа) в программном пакете VASP. Используя результаты расчетов матрицы C_{ij} , была определена обратная матрица — матрица соответствия S_{ij} (ГПа⁻¹). Обе матрицы представлены ниже:

$$C_{ij} = \begin{pmatrix} 6,9 & 4,6 & 3,6 & 0,0 & 0,0 & 0,0 \\ 4,6 & 11,3 & 5,7 & 0,0 & 0,0 & 0,0 \\ 3,6 & 5,7 & 12,1 & 0,0 & 0,0 & 0,0 \\ 0,0 & 0,0 & 0,0 & 4,8 & 0,0 & 0,0 \\ 0,0 & 0,0 & 0,0 & 0,0 & 2,8 & 0,0 \\ 0,0 & 0,0 & 0,0 & 0,0 & 0,0 & 3 \end{pmatrix}, \quad (2.4.2.1)$$

$$S_{ij} = \begin{pmatrix} 0,21 & -0,07 & -0,03 & 0,00 & 0,00 & 0,00 \\ -0,07 & 0,14 & -0,05 & 0,00 & 0,00 & 0,00 \\ -0,03 & -0,05 & 0,11 & 0,00 & 0,00 & 0,00 \\ 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,21 & 0,00 & 0,00 \\ 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,36 & 0,00 \\ 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,00 & 0,33 \end{pmatrix}, \quad (2.4.2.2)$$

Используя результаты первопринципных расчетов и известное значение пьезокоэффициента d_{14} (-1,4 пКл/Н [54]) для ПОБ пленок на основе α -фазы, было выполнено моделирование пьезоэффекта в ПОБ микроволокне методом конечных элементов посредством ПО Comsol Multiphysics 5.3. На рисунке 4.4.2 представлены результаты моделирования прямого и обратного пьезоэффекта ПОБ микроволокна. При приложении механической нагрузки (1 кПа) ко всей поверхности, микроволокно способно генерировать 7,9 мкВ (рисунок 4.4.2а). В условиях без жесткой фиксации всей нижней поверхности (в условиях пористого скэффолда), пьезоэлектрические микроволокна способны генерировать потенциал в диапазоне мВ, который может оказывать

положительный эффект на адгезию и пролиферацию клеток [175], что способствует ускорению регенерации тканей.

Для сравнения с экспериментальными результатами ПСМ, моделирование пьезоотклика ПОВ микроволокна было выполнено с помощью модели взаимодействия зонда (с радиусом скругления 50 нм) с микроволоконном (рисунок 2.4.1.1). Из представленных результатов видно, что микроволоконно испытывает скручивающую деформацию, отмеченной направлением стрелок (рисунок 4.4.2б). Максимальное смещение достигается (2,96 пм) в месте приложения напряжения, что обусловлено постепенным снижением величины электрического поля в объеме материала (рисунок 4.4.2в).

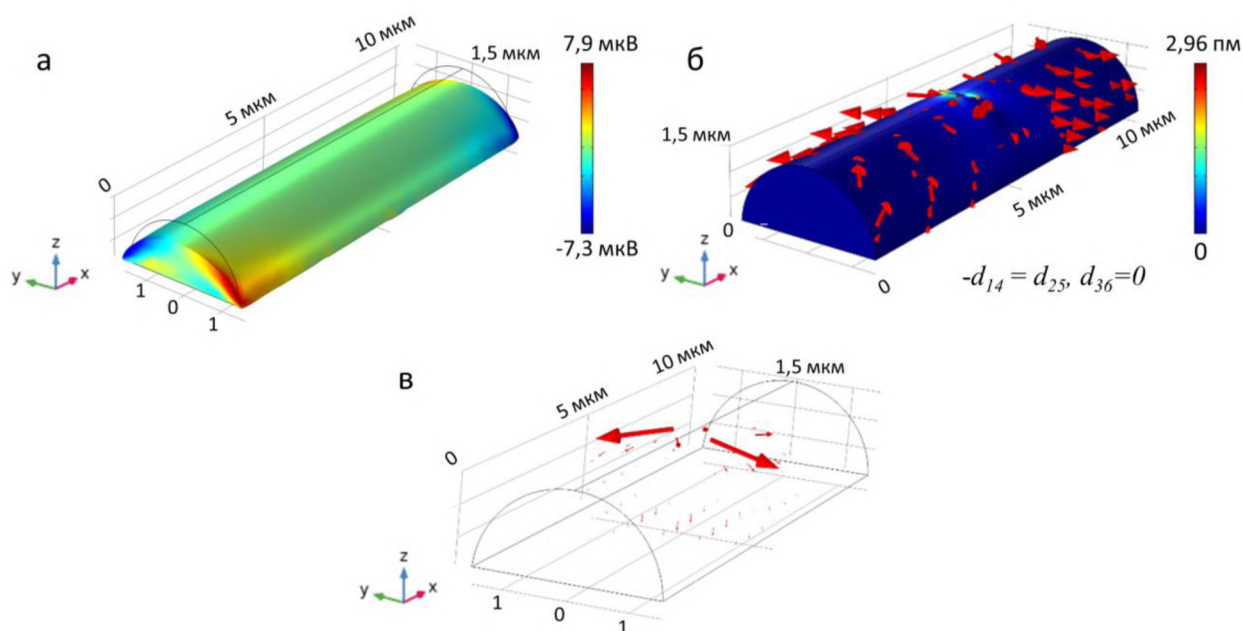


Рисунок 4.4.2 — 3-Д изображение (а) распределения потенциала поверхности (прямой пьезоэффект), (б) смещения и (в) электрического поля (обратный пьезоэффект) в микроволоконне ПОВ на основе α -фазы при 9 В

Варьирование значений d_{14} от 0 до 8 пКл/Н позволило установить, что измеренная локальная латеральная компонента пьезоотклика чистых ПОВ ($0,34 \pm 0,03$ пм/В, рисунок 4.3.4) и гибридных ПОВ-0,7ВОГ ($0,56 \pm 0,12$ пм/В, рисунок 4.3.4) микроволокон значительно выше, чем литературное значение d_{14} для природного ПОВ (-1,4 пКл/Н). Из представленной зависимости

латерального смещения XU от значений d_{14} видно (рисунок 4.4.3а), что значение смещения в моделируемой области взаимодействия зонда ПСМ с волокном составило 1 пм при приложении 9 В и $d_{14} = 1,4$ пКл/Н. В свою очередь, экспериментальные результаты выявили значение смещения $3,1 \pm 0,5$ пм и $5,0 \pm 1,0$ пм для чистых ПОБ и гибридных ПОБ-0,7ВОГ микроволокон (рисунок 4.3.3б), соответственно.

Более того, результаты моделирования показали существенно более низкий вертикальный пьезоотклик ПОБ микроволокна по сравнению с экспериментальными результатами. Так значение вертикального смещения модели составило 0,07 пм (рисунок 4.4.3б). Тогда как, экспериментальные результаты выявили вертикальное смещение равное $1,5 \pm 0,3$ пм и $3,0 \pm 0,8$ пм для чистых ПОБ и гибридных ПОБ-0,7ВОГ микроволокон (рисунок 4.3.3а), соответственно. Таким образом, наблюдаемая разница между теоретическими и экспериментальными результатами позволяет судить о формировании β -фазы, которая оказывает влияние на вертикальный пьезоотклик чистых и гибридных микроволокон. Согласно литературному анализу (раздел 1.3.1), для кристаллографической симметрии зигзагообразной конформации (β -фаза) ПОБ свойственны нормальные компоненты тензора пьезоотклика.

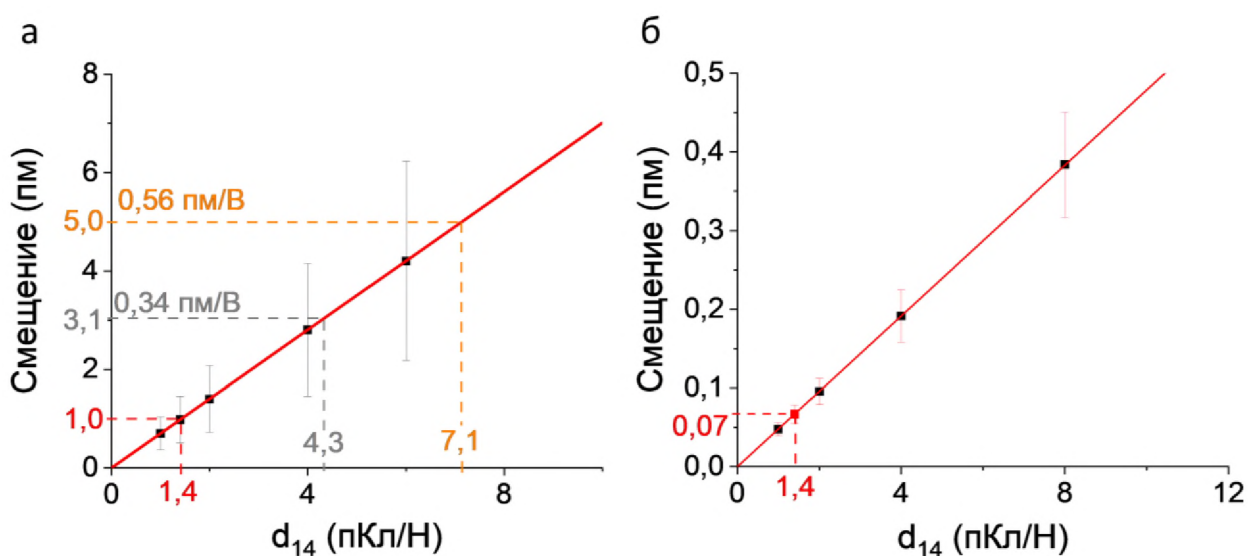


Рисунок 4.4.3 — Зависимость локальных (в) латеральной и (г) вертикальной компонент пьезоотклика (смещение) от величины пьезоэлектрического

коэффициента d_{14} α -фазы ПОБ при использовании модели взаимодействия зонда ПСМ с микроволокном

4.5 Влияние гидролиза на поверхностный потенциал, механические и пьезоэлектрические свойства ПОБ-ВОГ микроволокон.

Исследование изменения свойств материала в условиях эксплуатации позволяет сделать вывод о допустимости применения скэффолдов для тканевой инженерии. Поэтому в рамках диссертационного исследования представлено изучение изменения таких свойств композитных ПОБ-ВОГ скэффолдов в процессе биodeградации, как механические характеристики, поверхностный потенциал и пьезоотклик. Данные физические свойства являются одними из важнейших параметров будущего изделия. Механические свойства характеризуют способность конструкции сохранять свою форму и структуру и обеспечивать необходимые эксплуатационные параметры. Поверхностный потенциал и пьезоотклик – показатели способности скэффолдов оказывать локальное воздействие на физиологические процессы с целью ускорения восстановления поврежденного участка тканей.

Ранее было описано (раздел 4.4.1), что по мере увеличения содержания ВОГ наблюдается снижение механических характеристик ПОБ скэффолдов. Поэтому далее будет выполнено сравнение механических результатов до и после биodeградации для чистых ПОБ и композитных скэффолдов с наибольшим содержанием ВОГ (1,0 мас.%), использованным в работе.

На рисунке 4.5.1 представлены механические характеристики композитных ПОБ-ВОГ скэффолдов на разрыв. Видно, что деполимеризация аморфной фазы и формирование дефектов на поверхности волокон вследствие гидролиза (раздел 3.5) привело к снижению механических свойств всех скэффолдов. Так среднее значение модуля Юнга для чистых ПОБ скэффолдов снизилось с $128,6 \pm 3,0$ до $105,7 \pm 17,8$ МПа после 30 дней

гидролиза, а для композитных ПОб-1,0ВОб скэффолдов с $84,9 \pm 13,5$ до $73,4 \pm 5,2$ МПа (рисунок 4.5.1а). Значение предела прочности на разрыв чистых ПОб и композитных ПОб-1,0ВОб матриц уменьшилось с $2,5 \pm 0,2$ до $1,6 \pm 0,6$ МПа и с $1,8 \pm 0,2$ до $1,1 \pm 0,1$ МПа (рисунок 4.5.1б), соответственно. Таким образом, в среднем модуль упругости и предел прочности на разрыв чистых ПОб скэффолдов снизились после гидролиза в течение 30 дней на 18 % и 36 %, а для композитных скэффолдов с 1,0 мас.% ВОб на 13 % и 39%, соответственно.

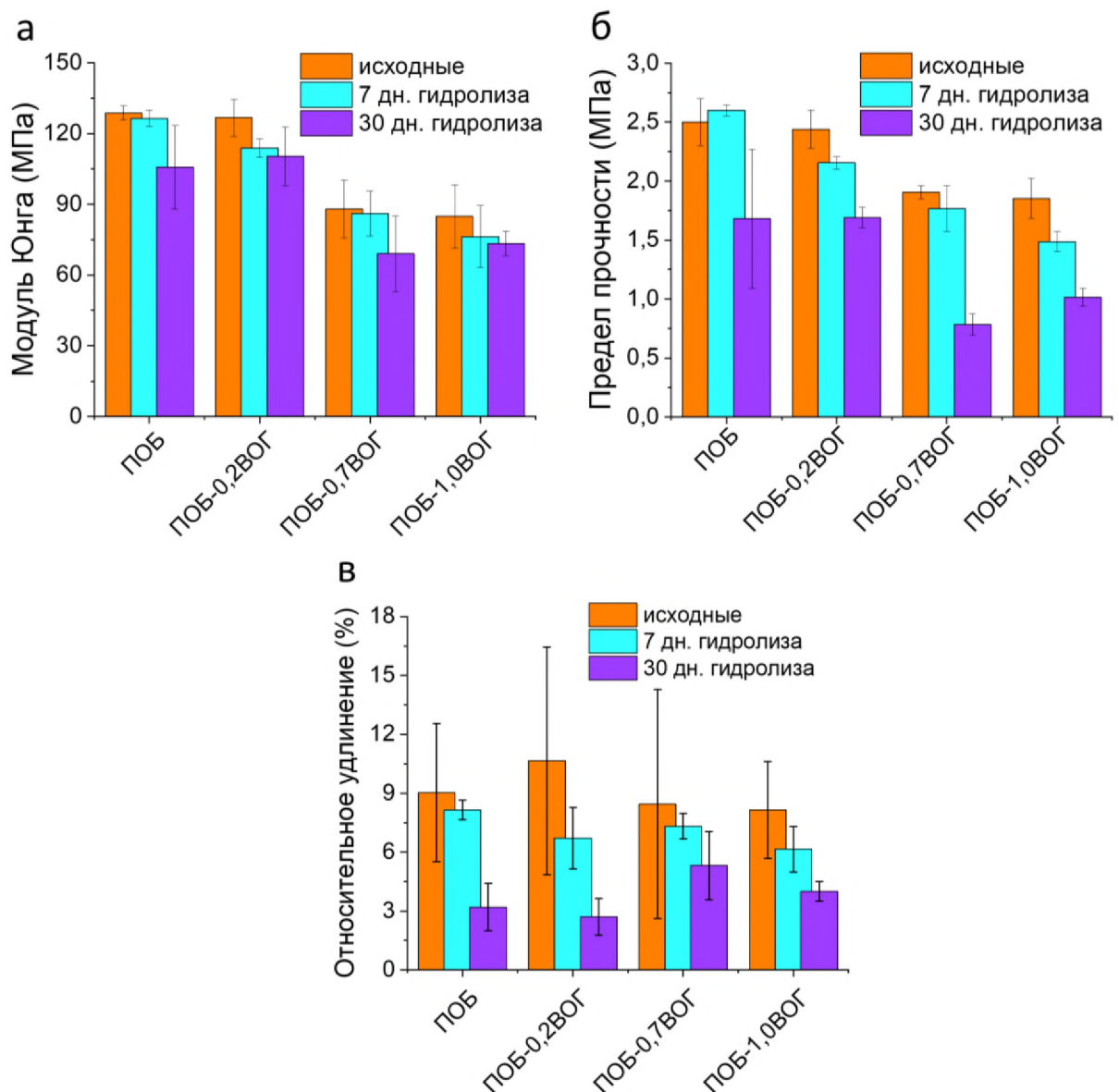


Рисунок 4.5.1 — (а) Относительное удлинение, (б) предел прочности на разрыв и (в) модуль Юнга чистых ПОб и гибридных ПОб-ВОб скэффолдов до (исходные) и после гидролиза в течение 7 и 30 дней

Однако, следует отметить, что добавление ВОГ позволило снизить уменьшение относительного удлинения композитных скэффолдов после гидролиза в течение 30 дней. Так относительное удлинение чистых ПОБ микроволокон уменьшилось с $9,1 \pm 3,5$ % до $3,2 \pm 1,2$ % (65 %), а ПОБ-1,0ВОГ микроволокон с $8,1 \pm 2,4$ % до $4,0 \pm 0,5$ % (51 %) после 30 дней гидролиза, что может быть вызвано более высоким содержанием аморфной фазы в случае композитных скэффолдов. При этом наименьшее снижение относительного удлинения на разрыв (36 %) после 30 дней гидролиза показали композитные скэффолды с 0,7 мас.% содержанием ВОГ. Предположительно, причиной является увеличение содержания β -фазы по сравнению с чистыми и остальными композитными скэффолдами (раздел 3.2). Сравнение результатов механических испытаний на разрыв и литературных данных для различных костных тканей, описанных в разделе 3.4, позволяет сделать заключение об способности разработанных пьезоэлектрических биорезорбируемых скэффолдов обеспечить необходимые механические характеристики в течение эксплуатации изделия (после имплантации).

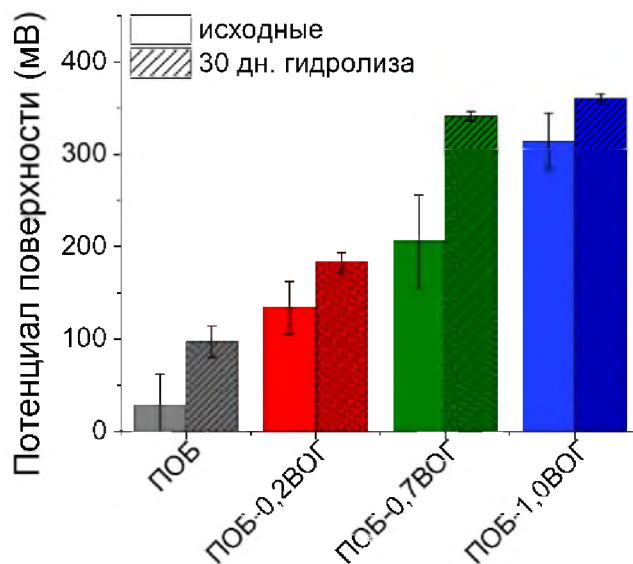


Рисунок 4.5.2 — Поверхностный потенциал чистых ПОБ и гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон до (исходные) и после гидролиза в течение 7 и 30 дней

На рисунке 4.5.2 представлены средние значения поверхностного потенциала единичных композитных ПОБ-ВОГ микроволокон до и после инкубации в моделируемой физиологической среде в течение 30 дней. Все скэффолды демонстрируют увеличение поверхностного потенциала после 30 дней гидролиза. Так поверхностный потенциал чистых ПОБ скэффолдов увеличился с 29 ± 33 мВ до 97 ± 17 мВ, а у композитных скэффолдов с 1,0 мас.% содержанием ВОГ с 314 ± 30 мВ до 361 ± 5 мВ. Данное увеличение поверхностного потенциала микроволокон обусловлено повышением степени кристалличности скэффолдов после гидролиза, т.к. полимерные цепочки в кристаллической фазе имеют более упорядоченный порядок диполей [176].

Структурно-фазовые изменения, вызванные деполимеризацией аморфной фазы в течение 30 дней гидролиза, также привели к значительному усилению пьезоотклика композитных ПОБ-ВОГ микроволокон (рисунок 4.5.3). Видно, что зависимость величины обеих компонент ПСМ сигнала (вертикальный и латеральный) от содержания ВОГ в композитных скэффолдах не изменилась после гидролиза – максимальное усиление пьезоотклика ПОБ микроволокон достигается при концентрации ВОГ 0,7 мас.%. Так вертикальная и латеральная компоненты пьезоотклика чистых ПОБ микроволокон увеличились с $0,18 \pm 0,04$ пм/В до $0,45 \pm 0,02$ пм/В и с $0,34 \pm 0,03$ пм/В до $0,83 \pm 0,07$ пм/В, соответственно. Гибридные ПОБ-0,7ВОГ микроволокна показали усиление вертикального и латерального сигнала с $0,45 \pm 0,08$ пм/В до $0,59 \pm 0,02$ пм/В и с $0,56 \pm 0,12$ пм/В до $1,06 \pm 0,02$ пм/В, соответственно.

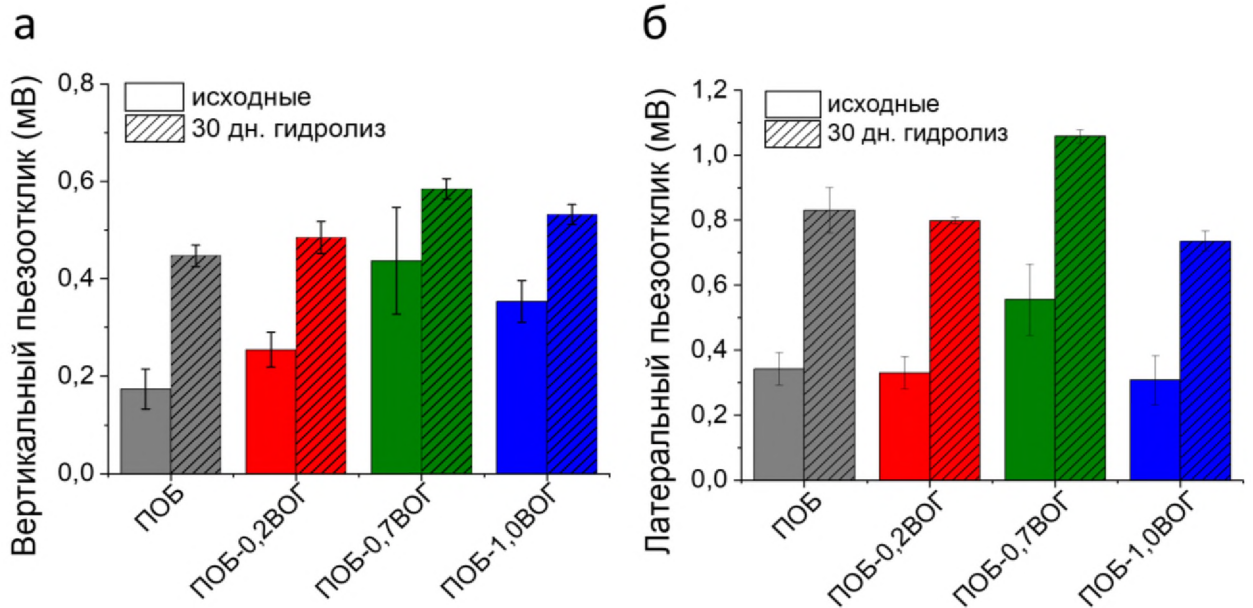


Рисунок 4.5.3 — Эффективный локальный (а) вертикальный и (б) латеральный пьезоотклик чистых и гибридных ПОБ-ВОГ скэффолдов до (исходные) и после гидролиза в течение 30 дней

4.5 Выводы по главе 4

1. Показана зависимость механических свойств композитных ПОБ скэффолдов от содержания ВОГ, что обусловлено изменениями микроструктуры и фазового состава. Добавление ВОГ приводит к снижению модуля Юнга и предела прочности на разрыв скэффолдов, но не оказывает влияния на их относительное удлинение, варьируя концентрацию ВОГ в пределах 1,0 мас. %.

2. Установлено увеличение поверхностного потенциала ПОБ микроволокон в $\sim 9,5$ раз при добавлении 1,0 мас. % ВОГ, что обусловлено повышением содержания полярных функциональных групп на поверхности композитных скэффолдов.

3. Гибридные ПОБ-ВОГ скэффолды демонстрируют улучшение смачиваемости поверхности по сравнению с чистым ПОБ. Добавление 1,0 мас. % ВОГ привело к снижению значений КУ ПОБ скэффолдов с $101,9 \pm 2,2^\circ$ до $92,5 \pm 2,4^\circ$ и увеличению СПЭ с $13,9 \pm 2,8$ мН/м до $17,2 \pm 5,8$ мН/м

в результате повышения вклада дисперсной составляющей (ван-дер-ваальсовы взаимодействия).

4. Установлено, что максимальное усиление пьезоотклика электроформованных ПОБ микроволокон достигается при содержании ВОГ 0,7 мас.% – вертикальная и латеральная компоненты составили $0,45 \pm 0,08$ пм/В и $0,56 \pm 0,12$ пм/В, соответственно.

5. Установлено, что деполимеризация аморфной фазы в результате гидролиза в течение 30 дней приводит к значительному увеличению поверхностного потенциала и пьезоотклика, и не оказывает влияния на их зависимость от содержания ВОГ в композитных ПОБ-ВОГ микроволокнах.

Заключение

В рамках диссертационного исследования были получены следующие основные результаты:

1) Установлено, что добавление ВОГ до 1,0 мас. % приводит к снижению среднего диаметра микроволокон с $2,1 \pm 0,4$ мкм до $1,5 \pm 0,3$ мкм, размеров кристаллитов α -фазы (ламели) с 26 нм до 23 нм для (020) плоскости и с 24 нм до 19 нм для (110) плоскости, а также модуля Юнга с $128,7 \pm 1,3$ МПа до $80,6 \pm 13,5$ МПа и предела прочности с $2,5 \pm 0,2$ МПа до $1,9 \pm 0,2$ МПа. При этом относительное удлинение скэффолдов до разрыва не изменяется и наблюдается повышение содержания β -фазы в гибридных ПОб-ВОГ микроволокнах.

2) Разработана феноменологическая модель, позволяющая объяснить структурно-фазовые преобразования в гибридных ПОб-ВОГ микроволокнах в зависимости от содержания ВОГ. Добавление ВОГ в электроформованные ПОб микроволокна при концентрациях менее 0,7 мас. % приводит к его встраиванию между ламелями (сдвиговая пьезоактивная α -фаза), что сопровождается снижением их размеров и формированием между ними зигзагообразной конформации (нормальная и сдвиговая пьезоактивная β -фаза). Увеличение содержания ВОГ до 0,7 мас. % и более сдерживает формирование β -фазы и существенно снижает размеры ламелей, что приводит к повышению содержания аморфной фазы в микроволокнах ПОб.

3) Установлено, что взаимодействие ВОГ (1,0 мас. %) с полимерными цепями приводит к существенному увеличению потенциала поверхности ПОб микроволокон с 33 ± 29 мВ до 314 ± 31 мВ. Повышение поверхностного потенциала гибридных микроволокон вследствие увеличения содержания полярных функциональных С=О групп на их поверхности приводит к росту вклада дисперсионной составляющей в поверхностную энергию и улучшению смачиваемости поверхности скэффолдов.

4) Впервые измерены локальные вертикальная ($0,18 \pm 0,04$ пм/В) и латеральная ($0,34 \pm 0,03$ пм/В) компоненты пьезоотклика электроформованных ПОБ микроволокон, наличие которых обусловлено полиморфизмом структуры ПОБ (α -фаза (спиралевидная конформация) и β -фаза (зигзагообразная конформация)).

5) Установлено, что в случае гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон пьезоотклик значительно выше по сравнению с чистым ПОБ. Максимальное увеличение локального вертикального ($0,45 \pm 0,08$ пм/В) и латерального ($0,56 \pm 0,12$ пм/В) пьезоотклика гибридных ПОБ-ВОГ микроволокон достигается при 0,7 мас.% ВОГ вследствие более высокого содержания пьезоактивной β -фазы.

6) Показано, что деполимеризация аморфной фазы в ПОБ скэффолдах приводит к увеличению содержания кристаллической фазы, определяющей повышение поверхностного потенциала и пьезоотклика микроволокон.

7) Методом конечных элементов установлен существенно более низкий локальный вертикальный пьезоотклик по сравнению с латеральным пьезооткликом ПОБ микроволокон на основе α -фазы. С помощью первопринципного подхода были рассчитаны матрица компонент тензора жесткости и физико-механические свойства (модуль Юнга $E = 7,92$ ГПа, объемный модуль упругости $K = 6,35$ ГПа, модуль сдвига $G = 3,07$ ГПа) орторомбической элементарной ячейки ($a = 5,86$, $b = 13,40$, $c = 6,05$ Å) α -фазы пространственной группы $P2_12_12_1$, содержащей 48 атомов.

Список сокращений и условных обозначений

- ПОБ – поли-3-оксибутират;
- ВОГ – восстановленный оксид графена;
- ПОА – полиоксиалконоаты;
- ЭФ – электроформование;
- РЭМ – растровая электронная микроскопия;
- СЗМ – сканирующая зондовая микроскопия;
- АСМ – атомно-силовая микроскопия;
- ПСМ – пьезоэлектрическая силовая микроскопия;
- КЗСМ – кельвин-зондовая сканирующая микроскопия;
- РФА – рентгенофазовый анализ;
- Фурье-ИК спектроскопия – инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье;
- КРС спектроскопия – спектроскопия комбинационного рассеяния света;
- ПО – программное обеспечение;
- РФЭС – рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия;
- ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия;
- МКЭ – метод конечных элементов;
- СПЭ – свободная поверхностная энергия;
- КУ – краевой угол;
- d_{ij} – пьезоэлектрический коэффициент;
- X_c – степень кристалличности;
- D_{hkl} – область когерентного рассеяния;
- T_m – температура плавления;
- С/О – отношение углерода к кислороду;
- ПОБ-0,2ВОГ – композит на основе ПОБ с содержанием ВОГ 0,2 мас.%;
- ПОБ-0,7ВОГ – композит на основе ПОБ с содержанием ВОГ 0,7 мас.%;
- ПОБ-1,0ВОГ – композит на основе ПОБ с содержанием ВОГ 1,0 мас.%.

Список используемой литературы

1. Chernozem R. V., Surmeneva M. A., Surmenev R. A. Hybrid biodegradable scaffolds of piezoelectric polyhydroxybutyrate and conductive polyaniline: Piezocharge constants and electric potential study // *Materials Letters*. – 2018. – Т. 220. – С. 257-260.
2. Cai Z., Xiong P., He S., Zhu C. Improved piezoelectric performances of highly orientated poly (β -hydroxybutyrate) electrospun nanofiber membrane scaffold blended with multiwalled carbon nanotubes // *Materials Letters*. – 2019. – Т. 240. – С. 213-216.
3. Chan B., Leong K. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations // *European spine journal*. – 2008. – Т. 17, № 4. – С. 467-479.
4. Hutmacher D. W. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues—state of the art and future perspectives // *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. – 2001. – Т. 12, № 1. – С. 107-124.
5. Akay G., Birch M., Bokhari M. Microcellular polyHIPE polymer supports osteoblast growth and bone formation in vitro // *Biomaterials*. – 2004. – Т. 25, № 18. – С. 3991-4000.
6. Lu T., Li Y., Chen T. Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering // *International journal of nanomedicine*. – 2013. – Т. 8. – С. 337.
7. Cooper A. I. Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide // *Journal of Materials Chemistry*. – 2000. – Т. 10, № 2. – С. 207-234.
8. Harris L. D., Kim B. S., Mooney D. J. Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming // *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*. – 1998. – Т. 42, № 3. – С. 396-402.
9. Sikavitsas V. I., Bancroft G. N., Mikos A. G. Formation of three-dimensional cell/polymer constructs for bone tissue engineering in a spinner flask and a rotating wall vessel bioreactor // *Journal of Biomedical Materials*

Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. – 2002. – T. 62, № 1. – C. 136-148.

10. Lee K.-S., Kim R. H., Yang D.-Y., Park S. H. Advances in 3D nano/microfabrication using two-photon initiated polymerization // Progress in Polymer Science. – 2008. – T. 33, № 6. – C. 631-681.

11. Gepp M. M., Ehrhart F., Shirley S. G., Howitz S., Zimmermann H. Dispensing of very low volumes of ultra high viscosity alginate gels: a new tool for encapsulation of adherent cells and rapid prototyping of scaffolds and implants // Biotechniques. – 2009. – T. 46, № 1. – C. 31-43.

12. Electrospun materials for tissue engineering and biomedical applications: research, design and commercialization. / Uyar T., Kny E.: Woodhead Publishing, 2017.

13. Polymer Nanocomposites in Biomedical Engineering. / Sadasivuni K. K., Ponnamma D., Rajan M., Ahmed B., SA A.-M. M. A.: Springer, 2019.

14. Kumar S., Chatterjee K. Comprehensive review on the use of graphene-based substrates for regenerative medicine and biomedical devices // ACS applied materials & interfaces. – 2016. – T. 8, № 40. – C. 26431-26457.

15. Li L., Jiang Z., Li M., Li R., Fang T. Hierarchically structured PMMA fibers fabricated by electrospinning // Rsc Advances. – 2014. – T. 4, № 95. – C. 52973-52985.

16. Uyar T., Besenbacher F. Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity // Polymer. – 2008. – T. 49, № 24. – C. 5336-5343.

17. Yuan X., Zhang Y., Dong C., Sheng J. Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning // Polymer international. – 2004. – T. 53, № 11. – C. 1704-1710.

18. Gorodzha S. N., Surmeneva M., Surmenev R. Fabrication and characterization of polycaprolactone cross-linked and highly-aligned 3-D artificial scaffolds for bone tissue regeneration via electrospinning technology // IOP

Conference Series: Materials Science and Engineering. – T. 98 –IOP Publishing, 2015. – C. 012024.

19. Mit-uppatham C., Nithitanakul M., Supaphol P. Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2004. – T. 205, № 17. – C. 2327-2338.

20. Casper C. L., Stephens J. S., Tassi N. G., Chase D. B., Rabolt J. F. Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process // *Macromolecules*. – 2004. – T. 37, № 2. – C. 573-578.

21. Qazi T. H., Rai R., Boccaccini A. R. Tissue engineering of electrically responsive tissues using polyaniline based polymers: a review // *Biomaterials*. – 2014. – T. 35, № 33. – C. 9068-9086.

22. Ribeiro C., Sencadas V., Correia D. M., Lanceros-Méndez S. Piezoelectric polymers as biomaterials for tissue engineering applications // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2015. – T. 136. – C. 46-55.

23. Surmenev R. A., Orlova T., Chernozem R. V., Ivanova A. A., Bartasyte A., Mathur S., Surmeneva M. A. Hybrid lead-free polymer-based nanocomposites with improved piezoelectric response for biomedical energy-harvesting applications: A review // *Nano Energy*. – 2019. – T. 62. – C. 475-506.

24. Xue X., Qu Z., Fu Y., Yu B., Xing L., Zhang Y. Self-powered electronic-skin for detecting glucose level in body fluid basing on piezo-enzymatic-reaction coupling process // *Nano Energy*. – 2016. – T. 26. – C. 148-156.

25. Manbachi A., Cobbold R. S. Development and application of piezoelectric materials for ultrasound generation and detection // *Ultrasound*. – 2011. – T. 19, № 4. – C. 187-196.

26. Иоффе А. Ф. Пьер Кюри: Доклад, прочитанный 19 апреля 1956 г. на торжественном заседании Академии наук СССР, Советского комитета защиты мира, Московского государственного университета им. М.В.

Ломоносова и Всесоюзного общества культурной связи с заграницей, посвященной пятидесятилетию со дня смерти Пьера Кюри // Успехи физических наук. – 1956. – Т. 58, № 4. – С. 571-579.

27. Поплавко Ю. М., Переверзева Л. П., Раевский И. П. Физика активных диэлектриков // . – 2009.

28. Pariy I. O., Ivanova A. A., Shvartsman V. V., Lupascu D. C., Sukhorukov G. B., Ludwig T., Bartasyte A., Mathur S., Surmeneva M. A., Surmenev R. A. Piezoelectric response in hybrid micropillar arrays of poly (vinylidene fluoride) and reduced graphene oxide // *Polymers*. – 2019. – Т. 11, № 6. – С. 1065.

29. С.Н. С. Общие сведения о диэлектриках. Сегнето-, пьезо- и пирозлектрики. Часть 1 // учебное пособие, ЮФУ. – 2008. – С. 56.

30. Левкин Д. Пьезоэлемент //.

31. Поройский С., Носаева Т., Коняева Н. Использование графена и наноматериалов на его основе в медицине // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. № 3 (43).

32. А.А.Бобцов В. И. Б., С.В.Быстров,, Григорьев В. В. Исполнительные устройства и системы для микроперемещений // Учебное пособие, - СПб ГУ ИТМО. – 2011. – С. 131.

33. Pina S., Oliveira J. M., Reis R. L. Natural-based nanocomposites for bone tissue engineering and regenerative medicine: A review // *Advanced Materials*. – 2015. – Т. 27, № 7. – С. 1143-1169.

34. Бонарцев А., Бонарцева Г., Решетов И., Шайтан К., Кирпичников М. Применение полиоксиалканоатов в медицине и биологическая активность природного поли-3-оксибутирата // *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). – 2019. – Т. 11, № 2 (41).

35. Farah S., Anderson D. G., Langer R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Т. 107. – С. 367-392.

36. Athanasiou K. A., Niederauer G. G., Agrawal C. M. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers // *Biomaterials*. – 1996. – Т. 17, № 2. – С. 93-102.

37. Middleton J. C., Tipton A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices // *Biomaterials*. – 2000. – Т. 21, № 23. – С. 2335-2346.

38. Vert M., Doi Y., Hellwich K.-H., Hess M., Hodge P., Kubisa P., Rinaudo M., Schué F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012) // *Pure and Applied Chemistry*. – 2012. – Т. 84, № 2. – С. 377-410.

39. Lim J., You M., Li J., Li Z. Emerging bone tissue engineering via Polyhydroxyalkanoate (PHA)-based scaffolds // *Materials Science and Engineering: C*. – 2017. – Т. 79. – С. 917-929.

40. Бонарцев А., Бонарцева Г., Шайтан К., Кирпичников М. Поли-3-оксибутират и биополимерные системы на его основе // *Биомедицинская химия*. – 2011. – Т. 57, № 4. – С. 374-391.

41. Qu X.-H., Wu Q., Zhang K.-Y., Chen G. In vivo studies of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) based polymers: biodegradation and tissue reactions // *Biomaterials*. – 2006. – Т. 27, № 19. – С. 3540-3548.

42. Shumilova A., Myltygashev M., Kirichenko A., Nikolaeva E., Volova T., Shishatskaya E. Porous 3D implants of degradable poly-3-hydroxybutyrate used to enhance regeneration of rat cranial defect // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2017. – Т. 105, № 2. – С. 566-577.

43. Жаркова И. И. Матриксy из биосинтетического сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем для инженерии костной ткани; диссертация... кандидата биологических наук: 03.01. 06/Жаркова Ирина ..., 2016.

44. Malm T., Bowald S., Bylock A., Busch C., Saldeen T. Enlargement of the right ventricular outflow tract and the pulmonary artery with a new biodegradable patch in transannular position // *European Surgical Research*. – 1994. – Т. 26, № 5. – С. 298-308.

45. Timin A. S., Muslimov A. R., Zyuzin M. V., Peltek O. O., Karpov T. E., Sergeev I. S., Dotsenko A. I., Goncharenko A. A., Yolshin N. D., Sinelnik A. Multifunctional scaffolds with improved antimicrobial properties and osteogenicity based on piezoelectric electrospun fibers decorated with bioactive composite microcapsules // *ACS applied materials & interfaces*. – 2018. – T. 10, № 41. – C. 34849-34868.

46. Chernozem R. V., Surmeneva M., Shkarina S., Loza K., Epple M., Ulbricht M., Cecilia A., Krause B., Baumbach T., Abalymov A. Piezoelectric 3-D Fibrous Poly (3-hydroxybutyrate)-Based Scaffolds Ultrasound-Mineralized with Calcium Carbonate for Bone Tissue Engineering: Inorganic Phase Formation, Osteoblast Cell Adhesion, and Proliferation // *ACS applied materials & interfaces*. – 2019. – T. 11, № 21. – C. 19522-19533.

47. Zviagin A. S., Chernozem R. V., Surmeneva M. A., Pyeon M., Frank M., Ludwig T., Tutacz P., Ivanov Y. F., Mathur S., Surmenev R. A. Enhanced piezoelectric response of hybrid biodegradable 3D poly (3-hydroxybutyrate) scaffolds coated with hydrothermally deposited ZnO for biomedical applications // *European Polymer Journal*. – 2019. – T. 117. – C. 272-279.

48. Bagrov D., Bonartsev A., Zhuikov V., Myshkina V., Makhina T., Zharkova I., Yakovlev S., Voinova V., Boskhomdzhiyev A., Bonartseva G. Amorphous and semicrystalline phases in ultrathin films of poly (3-hydroxybutyrate) // *TechConnect World NTSI-Nanotech 2012 Proceedings*. – 2012. – T. 1. – C. 602-605.

49. Phongtamrug S., Tashiro K. X-ray Crystal Structure Analysis of Poly (3-hydroxybutyrate) β -Form and the Proposition of a Mechanism of the Stress-Induced α -to- β Phase Transition // *Macromolecules*. – 2019. – T. 52, № 8. – C. 2995-3009.

50. Abdelwahab M. A., Flynn A., Chiou B.-S., Imam S., Orts W., Chiellini E. Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA–PHB blends // *Polymer degradation and stability*. – 2012. – T. 97, № 9. – C. 1822-1828.

51. Meereboer K. W., Misra M., Mohanty A. K. Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites // *Green Chemistry*. – 2020. – Т. 22, № 17. – С. 5519-5558.

52. Iwata T., Doi Y., Tanaka T., Akehata T., Shiromo M., Teramachi S. Enzymatic degradation and adsorption on poly [(R)-3-hydroxybutyrate] single crystals with two types of extracellular PHB depolymerases from *Comamonas acidovorans* YM1609 and *Alcaligenes faecalis* T1 // *Macromolecules*. – 1997. – Т. 30, № 18. – С. 5290-5296.

53. Lan C.-H., Sun Y.-M. Influence of the surface properties of nano-silica on the dispersion and isothermal crystallization kinetics of PHB/silica nanocomposites // *Materials Chemistry and Physics*. – 2017. – Т. 199. – С. 88-97.

54. Fukada E., Ando Y. Piezoelectric properties of poly- β -hydroxybutyrate and copolymers of β -hydroxybutyrate and β -hydroxyvalerate // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 1986. – Т. 8, № 6. – С. 361-366.

55. Fukada E., Ando Y. Bending piezoelectricity in a microbially produced poly- β -hydroxybutyrate // *Biorheology*. – 1988. – Т. 25, № 1-2. – С. 297-302.

56. Физические свойства кристаллов: Их описание при помощи тензоров и матриц: Пер. с англ. / Най Д.: Мир, 1967.

57. Най Д. Физические свойства кристаллов // Издательство Иностранной литературы. – 1960. – С. 152.

58. Tannous C. Symmetry and piezoelectricity: evaluation of α -quartz coefficients // *European Journal of Physics*. – 2017. – Т. 38, № 6. – С. 065502.

59. Domains in ferroic crystals and thin films. / Tagantsev A. K., Cross L. E., Fousek J.: Springer, 2010.

60. Guo H.-F., Li Z.-S., Dong S.-W., Chen W.-J., Deng L., Wang Y.-F., Ying D.-J. Piezoelectric PU/PVDF electrospun scaffolds for wound healing applications // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2012. – Т. 96. – С. 29-36.

61. Minary-Jolandan M., Yu M.-F. Shear piezoelectricity in bone at the nanoscale // *Applied Physics Letters*. – 2010. – Т. 97, № 15. – С. 153127.

62. Minary-Jolandan M., Yu M.-F. Uncovering nanoscale electromechanical heterogeneity in the subfibrillar structure of collagen fibrils responsible for the piezoelectricity of bone // *ACS nano*. – 2009. – T. 3, № 7. – C. 1859-1863.

63. Ochiai T., Fukada E. Electromechanical properties of poly-L-lactic acid // *Japanese journal of applied physics*. – 1998. – T. 37, № 6R. – C. 3374.

64. Malmonge J., Malmonge L., Fuzari Jr G., Malmonge S., Sakamoto W. Piezo and dielectric properties of PHB–PZT composite // *Polymer composites*. – 2009. – T. 30, № 9. – C. 1333-1337.

65. Gomes J., Nunes J. S., Sencadas V., Lanceros-Méndez S. Influence of the β -phase content and degree of crystallinity on the piezo-and ferroelectric properties of poly (vinylidene fluoride) // *Smart Materials and Structures*. – 2010. – T. 19, № 6. – C. 065010.

66. Martins P., Lopes A., Lanceros-Mendez S. Electroactive phases of poly (vinylidene fluoride): Determination, processing and applications // *Progress in polymer science*. – 2014. – T. 39, № 4. – C. 683-706.

67. Frübing P., Kremmer A., Gerhard-Multhaupt R., Spanoudaki A., Pissis P. Relaxation processes at the glass transition in polyamide 11: From rigidity to viscoelasticity // *The Journal of chemical physics*. – 2006. – T. 125, № 21. – C. 214701.

68. Novoselov K. S., Geim A. K., Morozov S. V., Jiang D., Zhang Y., Dubonos S. V., Grigorieva I. V., Firsov A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films // *science*. – 2004. – T. 306, № 5696. – C. 666-669.

69. Priyadarsini S., Mohanty S., Mukherjee S., Basu S., Mishra M. Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology application // *Journal of Nanostructure in Chemistry*. – 2018. – T. 8, № 2. – C. 123-137.

70. Chen J., Leng J., Yang X., Liao L., Liu L., Xiao A. Enhanced performance of magnetic graphene oxide-immobilized laccase and its application for the decolorization of dyes // *Molecules*. – 2017. – T. 22, № 2. – C. 221.

71. Michaud M., Martins I., Sukkurwala A. Q., Adjemian S., Ma Y., Pellegatti P., Shen S., Kepp O., Scoazec M., Mignot G. Autophagy-dependent

anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice // *Science*. – 2011. – T. 334, № 6062. – C. 1573-1577.

72. Nayak T. R., Andersen H., Makam V. S., Khaw C., Bae S., Xu X., Ee P.-L. R., Ahn J.-H., Hong B. H., Pastorin G. Graphene for controlled and accelerated osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells // *ACS nano*. – 2011. – T. 5, № 6. – C. 4670-4678.

73. Liu H., Cheng J., Chen F., Hou F., Bai D., Xi P., Zeng Z. Biomimetic and cell-mediated mineralization of hydroxyapatite by carrageenan functionalized graphene oxide // *ACS applied materials & interfaces*. – 2014. – T. 6, № 5. – C. 3132-3140.

74. Liu Y., Huang J., Li H. Synthesis of hydroxyapatite–reduced graphite oxide nanocomposites for biomedical applications: oriented nucleation and epitaxial growth of hydroxyapatite // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2013. – T. 1, № 13. – C. 1826-1834.

75. Gunatillake P. A., Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering // *Eur Cell Mater*. – 2003. – T. 5, № 1. – C. 1-16.

76. Agrawal C. M., Ray R. B. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering // *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. – 2001. – T. 55, № 2. – C. 141-150.

77. Niinomi M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods // *Science and technology of advanced Materials*. – 2003. – T. 4, № 5. – C. 445.

78. Evans F. G. Bibliography on the physical properties of the skeletal system // *Artif. Limbs*. – 1967. – T. 11. – C. 48-66.

79. Compton O. C., Nguyen S. T. Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: versatile building blocks for carbon-based materials // *small*. – 2010. – T. 6, № 6. – C. 711-723.

80. Jin S., Gao Q., Zeng X., Zhang R., Liu K., Shao X., Jin M. Effects of reduction methods on the structure and thermal conductivity of free-standing reduced graphene oxide films // *Diamond and Related Materials*. – 2015. – T. 58. – C. 54-61.

81. Mohan V. B., Brown R., Jayaraman K., Bhattacharyya D. Characterisation of reduced graphene oxide: Effects of reduction variables on electrical conductivity // *Materials Science and Engineering: B*. – 2015. – T. 193. – C. 49-60.

82. Panda P., Sahoo B. PZT to lead free piezo ceramics: a review // *Ferroelectrics*. – 2015. – T. 474, № 1. – C. 128-143.

83. Kim H., Abdala A. A., Macosko C. W. Graphene/polymer nanocomposites // *Macromolecules*. – 2010. – T. 43, № 16. – C. 6515-6530.

84. Chung C., Kim Y.-K., Shin D., Ryoo S.-R., Hong B. H., Min D.-H. Biomedical applications of graphene and graphene oxide // *Accounts of chemical research*. – 2013. – T. 46, № 10. – C. 2211-2224.

85. Xue J., Wu L., Hu N., Qiu J., Chang C., Atobe S., Fukunaga H., Watanabe T., Liu Y., Ning H. Evaluation of piezoelectric property of reduced graphene oxide (rGO)-poly (vinylidene fluoride) nanocomposites // *Nanoscale*. – 2012. – T. 4, № 22. – C. 7250-7255.

86. Rahman M. A., Chung G.-S. Synthesis of PVDF-graphene nanocomposites and their properties // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2013. – T. 581. – C. 724-730.

87. Surmenev R. A., Orlova T., Chernozem R. V., Ivanova A. A., Bartasyte A., Mathur S., Surmeneva M. A. Hybrid lead-free polymer-based scaffolds with improved piezoelectric response for biomedical energy-harvesting applications: A review // *Nano Energy*. – 2019. – T. 62. – C. 475-506.

88. Marcano D. C., Kosynkin D. V., Berlin J. M., Sinitskii A., Sun Z., Slesarev A., Alemany L. B., Lu W., Tour J. M. Improved synthesis of graphene oxide // *ACS nano*. – 2010. – T. 4, № 8. – C. 4806-4814.

89. Infrared and Raman spectroscopy of polymers. / Koenig J. L.: iSmithers Rapra Publishing, 2001.

90. Malard L., Pimenta M. A., Dresselhaus G., Dresselhaus M. Raman spectroscopy in graphene // *Physics reports*. – 2009. – Т. 473, № 5-6. – С. 51-87.

91. Kneipp K., Kneipp H., Itzkan I., Dasari R. R., Feld M. S. Ultrasensitive chemical analysis by Raman spectroscopy // *Chemical reviews*. – 1999. – Т. 99, № 10. – С. 2957-2976.

92. Materials characterization: introduction to microscopic and spectroscopic methods. / Leng Y.: John Wiley & Sons, 2009.

93. ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений: Пер. с англ. / Накамото К.: мир, 1991.

94. Xie W., Qiu P., Mao C. Bio-imaging, detection and analysis by using nanostructures as SERS substrates // *Journal of materials chemistry*. – 2011. – Т. 21, № 14. – С. 5190-5202.

95. Тарасевич Б. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии // М.: МГУ. – 2012.

96. Hoshino A., Isono Y. Degradation of aliphatic polyester films by commercially available lipases with special reference to rapid and complete degradation of poly (L-lactide) film by lipase PL derived from *Alcaligenes* sp // *Biodegradation*. – 2002. – Т. 13, № 2. – С. 141-147.

97. Босхомджиев А., Бонарцев А., Махина Т., Мышкина В., Иванов Е., Багров Д., Филатова Е., Иорданский А., Бонарцева Г. Сравнительное изучение кинетики биodeградации биополимерных систем на основе поли-3-оксибутирата // *Биомедицинская химия*. – 2009. – Т. 55, № 6. – С. 702-712.

98. Zheng Z., Bei F.-F., Tian H.-L., Chen G.-Q. Effects of crystallization of polyhydroxyalkanoate blend on surface physicochemical properties and interactions with rabbit articular cartilage chondrocytes // *Biomaterials*. – 2005. – Т. 26, № 17. – С. 3537-3548.

99. Chen L., Wang M. Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB–PHV copolymer // *Biomaterials*. – 2002. – Т. 23, № 13. – С. 2631-2639.
100. Physical properties of crystals: their representation by tensors and matrices. / Nye J. F.: Oxford university press, 1985.
101. В.Г. Ф. Метод конечных элементов в механике деформируемого твёрдого тела // Учебное пособие, СГТУ. – 2010. – С. 131.
102. Ransley J. Piezoelectric Materials: Understanding the Standards // *COMSOL Blog*. – 2014.
103. Википедия. Нотация Фойгта // Википедия — свободная энциклопедия. – 2019.
104. Senatov F., Anisimova N., Kiselevskiy M., Kopylov A., Tcherdyntsev V., Maksimkin A. Polyhydroxybutyrate/hydroxyapatite highly porous scaffold for small bone defects replacement in the nonload-bearing parts // *Journal of Bionic Engineering*. – 2017. – Т. 14, № 4. – С. 648-658.
105. Chandar J., Shanmugan S., Mutharasu D., Aziz A. Dielectric and UV absorption studies of ZnO nanoparticles reinforced poly(3-hydroxybutyrate) bio composites for UV free LEDs // *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials Vol.* – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 123-129.
106. Ando M., Kawamura H., Kageyama K., Tajitsu Y. Film sensor device fabricated by a piezoelectric poly (L-lactic acid) film // *Japanese Journal of Applied Physics*. – 2012. – Т. 51, № 9S1. – С. 09LD14.
107. Tajitsu Y. Piezoelectricity of chiral polymeric fiber and its application in biomedical engineering // *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 1000-1008.
108. Ladoux B., Nicolas A. Physically based principles of cell adhesion mechanosensitivity in tissues // *Reports on Progress in Physics*. – 2012. – Т. 75, № 11. – С. 116601.
109. Van Gunsteren W. F., Berendsen H. J. Computer simulation of molecular dynamics: methodology, applications, and perspectives in chemistry //

Angewandte Chemie International Edition in English. – 1990. – T. 29, № 9. – C. 992-1023.

110. Fermi E. Statistical method to determine some properties of atoms // Rend. Accad. Naz. Lincei. – 1927. – T. 6, № 602-607. – C. 5.

111. Thomas L. H. The calculation of atomic fields // Mathematical proceedings of the Cambridge philosophical society. – T. 23 –Cambridge University Press, 1927. – C. 542-548.

112. Oppenheimer J. Born M. Zur quantentheorie der moleküle // Ann Phys (Leipzig). – 1927.

113. Schrödinger E. Annalen der Physik, 79, 361 // Book Annalen der Physik, 79, 361 / Editor, 1926.

114. Dirac P. A. Note on exchange phenomena in the Thomas atom // Mathematical proceedings of the Cambridge philosophical society. – T. 26 –Cambridge University Press, 1930. – C. 376-385.

115. Hohenberg P., Kohn W. Inhomogeneous electron gas // Physical review. – 1964. – T. 136, № 3B. – C. B864.

116. Kohn W. Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals // Reviews of Modern Physics. – 1999. – T. 71, № 5. – C. 1253.

117. Blöchl P. E. Projector augmented-wave method // Physical review B. – 1994. – T. 50, № 24. – C. 17953.

118. Kresse G., Joubert D. From ultrasoft pseudopotentials to the projector augmented-wave method // Physical review b. – 1999. – T. 59, № 3. – C. 1758.

119. Kresse G., Hafner J. Norm-conserving and ultrasoft pseudopotentials for first-row and transition elements // Journal of Physics: Condensed Matter. – 1994. – T. 6, № 40. – C. 8245.

120. Kresse G., Furthmüller J. Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set // Physical review B. – 1996. – T. 54, № 16. – C. 11169.

121. Kresse G., Furthmüller J. Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set // Computational materials science. – 1996. – T. 6, № 1. – C. 15-50.

122. Kresse G., Hafner J. Ab initio molecular dynamics for liquid metals // Physical review B. – 1993. – T. 47, № 1. – C. 558.

123. Perdew J. P., Burke K., Ernzerhof M. Generalized gradient approximation made simple // Physical review letters. – 1996. – T. 77, № 18. – C. 3865.

124. Monkhorst H. J., Pack J. D. Special points for Brillouin-zone integrations // Physical review B. – 1976. – T. 13, № 12. – C. 5188.

125. Hill R. The elastic behaviour of a crystalline aggregate // Proceedings of the Physical Society. Section A. – 1952. – T. 65, № 5. – C. 349.

126. Momma K., Izumi F. VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data // Journal of applied crystallography. – 2011. – T. 44, № 6. – C. 1272-1276.

127. Stone H., Lin S., Mequanint K. Preparation and characterization of electrospun rGO-poly (ester amide) conductive scaffolds // Materials Science and Engineering: C. – 2019. – T. 98. – C. 324-332.

128. Ribeiro C., Sencadas V., Costa C. M., Ribelles J. L. G., Lanceros-Méndez S. Tailoring the morphology and crystallinity of poly (L-lactide acid) electrospun membranes // Science and Technology of Advanced Materials. – 2011.

129. Ando Y., Fukada E. Piezoelectric properties and molecular motion of poly (β -hydroxybutyrate) films // Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition. – 1984. – T. 22, № 10. – C. 1821-1834.

130. Perret E., Reifler F. A., Gooneie A., Hufenus R. Tensile study of melt-spun poly (3-hydroxybutyrate) P3HB fibers: Reversible transformation of a highly oriented phase // Polymer. – 2019. – T. 180. – C. 121668.

131. Perret E., Reifler F. A., Gooneie A., Chen K., Selli F., Hufenus R. Structural response of melt-spun poly (3-hydroxybutyrate) fibers to stress and temperature // Polymer. – 2020. – T. 197. – C. 122503.

132. Râpă M., Zaharia C., Stănescu P. O., Cășărică A., Matei E., Predescu A. M., Pantilimon M. C., Vidu R., Predescu C., Cioflan H. In vitro degradation of PHB/bacterial cellulose biocomposite scaffolds // *International Journal of Polymer Science*. – 2021. – T. 2021.

133. Chastain J., King Jr R. C. Handbook of X-ray photoelectron spectroscopy // Perkin-Elmer Corporation. – 1992. – T. 40. – C. 221.

134. Nitschke M., Schmack G., Janke A., Simon F., Pleul D., Werner C. Low pressure plasma treatment of poly (3-hydroxybutyrate): Toward tailored polymer surfaces for tissue engineering scaffolds // *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. – 2002. – T. 59, № 4. – C. 632-638.

135. Stobinski L., Lesiak B., Malolepszy A., Mazurkiewicz M., Mierzwa B., Zemek J., Jiricek P., Bieloshapka I. Graphene oxide and reduced graphene oxide studied by the XRD, TEM and electron spectroscopy methods // *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*. – 2014. – T. 195. – C. 145-154.

136. Al-Gaashani R., Najjar A., Zakaria Y., Mansour S., Atieh M. XPS and structural studies of high quality graphene oxide and reduced graphene oxide prepared by different chemical oxidation methods // *Ceramics International*. – 2019. – T. 45, № 11. – C. 14439-14448.

137. De Giglio E., Ditaranto N., Sabbatini L. 3. Polymer surface chemistry: Characterization by XPS // *Polymer surface characterization* De Gruyter, 2014. – C. 73-112.

138. Furukawa T., Sato H., Murakami R., Zhang J., Noda I., Ochiai S., Ozaki Y. Raman microspectroscopy study of structure, dispersibility, and crystallinity of poly (hydroxybutyrate)/poly (l-lactic acid) blends // *Polymer*. – 2006. – T. 47, № 9. – C. 3132-3140.

139. Guex L. G., Sacchi B., Peuvot K. F., Andersson R. L., Pourrahimi A. M., Ström V., Farris S., Olsson R. T. Experimental review: chemical reduction of

graphene oxide (GO) to reduced graphene oxide (rGO) by aqueous chemistry // *Nanoscale*. – 2017. – T. 9, № 27. – C. 9562-9571.

140. Zhijiang C., Cong Z., Jie G., Qing Z., Kongyin Z. Electrospun carboxyl multi-walled carbon nanotubes grafted polyhydroxybutyrate composite nanofibers membrane scaffolds: preparation, characterization and cytocompatibility // *Materials Science and Engineering: C*. – 2018. – T. 82. – C. 29-40.

141. Bian J., Lin H. L., Wang G., Zhou Q., Wang Z. J., Zhou X., Lu Y., Zhao X. W. Morphological, mechanical and thermal properties of chemically bonded graphene oxide nanocomposites with biodegradable poly (3-hydroxybutyrate) by solution intercalation // *Polymers and Polymer Composites*. – 2016. – T. 24, № 2. – C. 133-141.

142. Kuo S.-W., Chan S.-C., Chang F.-C. Effect of hydrogen bonding strength on the microstructure and crystallization behavior of crystalline polymer blends // *Macromolecules*. – 2003. – T. 36, № 17. – C. 6653-6661.

143. Tokiwa Y., Calabia B. P. Biodegradability and biodegradation of polyesters // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2007. – T. 15, № 4. – C. 259-267.

144. King E., Cameron R. E. Effect of hydrolytic degradation on the microstructure of poly(glycolic acid): An X-ray scattering and ultraviolet spectrophotometry study of wet samples ultraviolet // *Journal of Applied Polymer Science*. – 1997. – T. 66, № 9. – C. 1681-1690.

145. Zong X. H., Wang Z. G., Hsiao B. S., Chu B., Zhou J. J., Jamiolkowski D. D., Muse E., Dormier E. Structure and morphology changes in absorbable poly(glycolide) and poly(glycolide-co-lactide) during in vitro degradation // *Macromolecules*. – 1999. – T. 32, № 24. – C. 8107-8114.

146. Zhuikov V. A., Bonartsev A. P., Bagrov D. V., Yakovlev S. G., Myshkina V. L., Makhina T. K., Bessonov I. V., Kopitsyna M. N., Morozov A. S., Rusakov A. A., Useinov A. S., Shaitan K. V., Bonartseva G. A. Mechanics and surface ultrastructure changes of poly(3-hydroxybutyrate) films during enzymatic

degradation in pancreatic lipase solution // *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. – 2017. – T. 648, № 1. – C. 236-243.

147. Kasálková N. S., Slepíčka P., Sajdl P., Švorčík V. Surface changes of biopolymers PHB and PLLA induced by Ar⁺ plasma treatment and wet etching // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. – 2014. – T. 332. – C. 63-67.

148. Surmenev R., Chernozem R., Syromotina D., Oehr C., Baumbach T., Krause B., Boyandin A., Dvojinina L., Volova T., Surmeneva M. Low-temperature argon and ammonia plasma treatment of poly-3-hydroxybutyrate films: Surface topography and chemistry changes affect fibroblast cells in vitro // *European Polymer Journal*. – 2019. – T. 112. – C. 137-145.

149. Corrêa M., Rezende M., Rosa D., Agnelli J., Nascente P. Surface composition and morphology of poly (3-hydroxybutyrate) exposed to biodegradation // *Polymer Testing*. – 2008. – T. 27, № 4. – C. 447-452.

150. Thomason J. The influence of fibre length, diameter and concentration on the impact performance of long glass-fibre reinforced polyamide 6, 6 // *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. – 2009. – T. 40, № 2. – C. 114-124.

151. Zhou J., Tang J., Meng H., Yu J. Study on PP/calcium sulfate whisker composite // *Engineering Plastics Application*. – 2008. – T. 36, № 11. – C. 19-22.

152. Wang G., Qi F., Yang W., Yang Y., He C., Peng S., Shuai C. Crystallinity and reinforcement in poly-L-lactic acid scaffold induced by carbon nanotubes // *Advances in Polymer Technology*. – 2019. – T. 2019.

153. Song J., Gao H., Zhu G., Cao X., Shi X., Wang Y. The preparation and characterization of polycaprolactone/graphene oxide biocomposite nanofiber scaffolds and their application for directing cell behaviors // *Carbon*. – 2015. – T. 95. – C. 1039-1050.

154. Papageorgiou D. G., Kinloch I. A., Young R. J. Mechanical properties of graphene and graphene-based nanocomposites // *Progress in Materials Science*. – 2017. – T. 90. – C. 75-127.

155. Jeong J. S., Moon J.-S., Jeon S. Y., Park J. H., Alegaonkar P. S., Yoo J. B. Mechanical properties of electrospun PVA/MWNTs composite nanofibers // *Thin Solid Films*. – 2007. – T. 515, № 12. – C. 5136-5141.
156. Goldstein S. A., Wilson D. L., Sonstegard D. A., Matthews L. S. The mechanical properties of human tibial trabecular bone as a function of metaphyseal location // *Journal of biomechanics*. – 1983. – T. 16, № 12. – C. 965-969.
157. Lindahl O. Mechanical properties of dried defatted spongy bone // *Acta Orthopaedica Scandinavica*. – 1976. – T. 47, № 1. – C. 11-19.
158. Behrens J., Walker P., Shoji H. Variations in strength and structure of cancellous bone at the knee // *Journal of Biomechanics*. – 1974. – T. 7, № 3. – C. 201-207.
159. Ribeiro C., Correia D., Rodrigues I., Guardao L., Guimaraes S., Soares R., Lanceros-Méndez S. In vivo demonstration of the suitability of piezoelectric stimuli for bone reparation // *Materials Letters*. – 2017. – T. 209. – C. 118-121.
160. Salomão F. C., Lanzoni E. M., Costa C. A., Deneke C., Barros E. B. Determination of high-frequency dielectric constant and surface potential of graphene oxide and influence of humidity by Kelvin probe force microscopy // *Langmuir*. – 2015. – T. 31, № 41. – C. 11339-11343.
161. Slobodian O. M., Lytvyn P. M., Nikolenko A. S., Naseka V. M., Khyzhun O. Y., Vasin A. V., Sevostianov S. V., Nazarov A. N. Low-temperature reduction of graphene oxide: electrical conductance and scanning Kelvin probe force microscopy // *Nanoscale research letters*. – 2018. – T. 13, № 1. – C. 139.
162. Feng B., Weng J., Yang B., Qu S., Zhang X. Characterization of titanium surfaces with calcium and phosphate and osteoblast adhesion // *Biomaterials*. – 2004. – T. 25, № 17. – C. 3421-3428.
163. Owens D. K., Wendt R. Estimation of the surface free energy of polymers // *Journal of applied polymer science*. – 1969. – T. 13, № 8. – C. 1741-1747.

164. Sharma P., Wu D., Poddar S., Reece T. J., Ducharme S., Gruverman A. Orientational imaging in polar polymers by piezoresponse force microscopy // *Journal of Applied Physics*. – 2011. – Т. 110, № 5. – С. 052010.

165. Калашников Д. А., Карасев В. П., Кулик С. П., Соловьев А. А., Рытиков Г. О. Генерация перепутанных состояний в полидоменных кристаллах дигидрофосфата калия // *Письма в Журнал экспериментальной и теоретической физики*. – 2008. – Т. 87, № 1. – С. 66-71.

166. Sharma P., Reece T. J., Ducharme S., Gruverman A. High-resolution studies of domain switching behavior in nanostructured ferroelectric polymers // *Nano letters*. – 2011. – Т. 11, № 5. – С. 1970-1975.

167. Nath R., Hong S., Klug J. A., Imre A., Bedzyk M. J., Katiyar R. S., Auciello O. Effects of cantilever buckling on vector piezoresponse force microscopy imaging of ferroelectric domains in BiFeO₃ nanostructures // *Applied Physics Letters*. – 2010. – Т. 96, № 16. – С. 163101.

168. Yaqoob U., Chung G.-S. Effect of reduced graphene oxide on the energy harvesting performance of P (VDF-TrFE)-BaTiO₃ nanocomposite devices // *Smart Materials and Structures*. – 2017. – Т. 26, № 9. – С. 095060.

169. da Cunha Rodrigues G., Zelenovskiy P., Romanyuk K., Luchkin S., Kopelevich Y., Kholkin A. Strong piezoelectricity in single-layer graphene deposited on SiO₂ grating substrates // *Nature communications*. – 2015. – Т. 6. – С. 7572.

170. Cobntbekt J., Mabchessault R. Physical properties of poly-β-hydroxybutyrate: IV. Conformational analysis and crystalline structure // *Journal of molecular biology*. – 1972. – Т. 71, № 3. – С. 735-756.

171. Ghosh P., Arya A., Dey G., Kuganathan N., Grimes R. A computational study on the superionic behaviour of ThO₂ // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2016. – Т. 18, № 46. – С. 31494-31504.

172. Ghosh P. S., Arya A., Tewari R., Dey G. Alpha to omega martensitic phase transformation pathways in pure Zr // *Journal of alloys and compounds*. – 2014. – Т. 586. – С. 693-698.

173. Ghosh P., Arya A., Tewari R., Kulkarni U., Dey G. Ab initio study on the formation of chemically ordered Zr₂Al phase by coupled replacive–displacive transformation // *Philosophical Magazine*. – 2012. – T. 92, № 33. – C. 4040-4055.

174. Wang H., Tashiro K. Reinvestigation of crystal structure and intermolecular interactions of biodegradable poly (3-hydroxybutyrate) α -form and the prediction of its mechanical property // *Macromolecules*. – 2016. – T. 49, № 2. – C. 581-594.

175. Kitsara M., Blanquer A., Murillo G., Humblot V., Vieira S. D. B., Nogués C., Ibáñez E., Esteve J., Barrios L. Permanently hydrophilic, piezoelectric PVDF nanofibrous scaffolds promoting unaided electromechanical stimulation on osteoblasts // *Nanoscale*. – 2019. – T. 11, № 18. – C. 8906-8917.

176. Smith M., Chalklen T., Lindackers C., Calahorra Y., Howe C., Tamboli A., Bax D. V., Barrett D. J., Cameron R. E., Best S. M. Poly-L-lactic acid nanotubes as soft piezoelectric interfaces for biology: controlling cell attachment via polymer crystallinity // *ACS applied bio materials*. – 2020. – T. 3, № 4. – C. 2140-2149.