

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

На правах рукописи

Бадараев Арсалан Доржиевич
РАЗРАБОТКА НЕТКАНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ
РЕГЕНЕРАЦИИ ДЕФЕКТОВ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК
ПОЛОСТИ РТА

1.3.8 – Физика конденсированного состояния

2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
кандидат физико-математических наук,
доцент НОЦ Б.П. Вейнберга,
Твердохлебов С.И.

Научный консультант:
кандидат технических наук,
Большасов Е.Н.

Томск – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. Слизистые оболочки полости рта, нетканые полимерные материалы, применяемые для их защиты и лечения, метод магнетронного распыления для придания им биоактивных свойств.....	18
1.1. Слизистые оболочки полости рта: структура, дефекты, рецессия дёсен, способы лечения.....	18
1.2. Электроспиннинг как эффективный способ изготовления материалов для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта и лечения рецессии дёсен	23
1.3. ВДФ-ТеФЭ как перспективный полимер для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта.....	26
1.4. ПЛГА как перспективный полимер для лечения рецессии дёсен	27
1.5. Медные тонкие плёнки как эффективный способ придания нетканым ВДФ-ТеФЭ материалам антибактериальных свойств.....	29
1.6. Тонкие плёнки титана как перспективный способ придания гидрофильных свойств нетканым ПЛГА материалам	31
1.7. Медно-титановые тонкие плёнки как эффективный способ придания нетканым ПЛГА материалам антибактериальных и биосовместимых свойств..	32
1.8. Магнетронное распыление как эффективный способ нанесения титановых, медных и медно-титановых тонких плёнок	33
1.9. Выводы по первой главе	36
1.10. Цели и задачи исследования	38
Глава 2. Экспериментальное оборудование, материалы и методы исследования	40
2.1. Полимеры, применяемые для изготовления нетканых материалов	40
2.2. Экспериментальное оборудование	40

2.2.1. Установка электроспиннинга	40
2.2.2. Установка магнетронного распыления Катод-1М	43
2.2.3. Установка ионно-плазменного распыления.....	46
2.3. Методы исследования структурно-морфологических и физико-химических свойств	52
2.3.1. Сканирующая электронная микроскопия	52
2.3.2. Атомно-силовая микроскопия.....	55
2.3.3. Гравиметрический метод анализа пористости	57
2.3.4. Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия	58
2.3.5. Рамановская спектроскопия	59
2.3.6. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.....	60
2.3.7. Рентгеноструктурный анализ	63
2.3.8. Механические свойства.....	64
2.3.9. Смачиваемость	66
2.3.10. Термогравиметрический анализ.....	67
2.3.11. Инверсионная вольтамперометрия	68
2.4. Исследования биологических свойств.....	69
2.4.1. Антибактериальная активность.....	69
2.4.2. Анализ биосовместимости <i>in vitro</i>	70
2.4.3. Анализ биосовместимости <i>in vivo</i>	74
2.5. Моделирование антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента	75
2.6. Статистическая обработка результатов.....	76
ГЛАВА 3. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные, антибактериальные и биологические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления меди	77

3.1. Внешний вид ВДФ-ТеФЭ мембран.....	77
3.2. Морфология поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран	78
3.3. Элементный и химический составы поверхностей ВДФ-ТеФЭ мембран	80
3.4. Распределение меди в ВДФ-ТеФЭ мембранах	92
3.5. Кристаллическая структура ВДФ-ТеФЭ мембран	94
3.6. Смачиваемость ВДФ-ТеФЭ мембран	95
3.7. Механические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран.....	96
3.8. Антибактериальные свойства ВДФ-ТеФЭ мембран	97
3.9. Исследования регенеративных свойств ВДФ-ТеФЭ мембран <i>in vivo</i> .	98
3.10. Выводы по третьей главе	104

ГЛАВА 4. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные и биологические свойства ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом магнетронного распыления титана..... 107

4.1. Внешний вид ПЛГА скаффолдов.....	107
4.2. Морфология поверхности ПЛГА скаффолдов.....	108
4.3. Элементный и химический составы ПЛГА скаффолдов.....	109
4.4. Смачиваемость ПЛГА скаффолдов.....	115
4.5. Механические свойства ПЛГА скаффолдов	116
4.6. Термогравиметрический анализ ПЛГА скаффолдов	117
4.7. Биологические свойства ПЛГА скаффолдов	118
4.8. Выводы по четвёртой главе	120

ГЛАВА 5. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные, антибактериальные и биологические свойства ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом одновременного магнетронного распыления меди и титана (Cu-Ti) 123

5.1. Внешний вид PLLGA скаффолдов.....	123
5.2. Морфология поверхности PLLGA скаффолдов.....	124
5.3. Элементный и химический составы поверхности PLLGA скаффолдов	127
5.4. Морфология и элементное картирование поперечного сечения PLLGA скаффолдов	135
5.5. Смачиваемость PLLGA скаффолдов.....	136
5.6. Механические свойства PLLGA скаффолдов	137
5.7. Термогравиметрический анализ PLLGA скаффолдов	138
5.8. Количество и скорость выхода ионов меди с поверхности PLLGA скаффолдов в воду	139
5.9. Морфология и элементное картирование поверхности PLLGA скаффолдов	141
5.10. Антибактериальные свойства PLLGA скаффолдов	143
5.11. Цитотоксичность PLLGA скаффолдов	146
5.12. Выводы по пятой главе	150
ГЛАВА 6. Программа для ЭВМ, предназначенная для моделирования антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента	155
6.1 Моделирование антибактериальных свойств ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления меди	155
6.2 Моделирование антибактериальных свойств PLLGA скаффолдов, модифицированных методом одновременного магнетронного распыления меди и титана.....	156
6.3. Моделирование антибактериальных свойств металлических скаффолдов, насыщенных тетрациклином.....	158
6.4. Моделирование антибактериальных свойств наночастиц серебра ...	159

6.5. Выводы по шестой главе.....	160
ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ.....	162
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	167
ПРИЛОЖЕНИЕ А. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.....	200
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.....	201
ПРИЛОЖЕНИЕ В. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.....	203
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ НА РАЗРАБОТКУ НЕТКАНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА.....	205
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. ПРОТОКОЛ СОВМЕСТНОГО СЕМИНАРА НАУЧНЫХ КОЛЛЕКТИВОВ ИЗ ТПУ И СИБГМУ.....	211
ПРИЛОЖЕНИЕ Е. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.....	212
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. РЕЗУЛЬТАТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «ПРОГРАММА ДЛЯ ЭВМ».....	213
ПРИЛОЖЕНИЕ З. ФУНКЦИОНАЛ РАБОТЫ ПРОГРАММЫ.....	214

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Все мягкие ткани полости рта покрыты слизистой оболочкой, которая обеспечивает естественную защиту от бактерий и механических повреждений. Основными причинами нарушения таких функций является возникновение раневых дефектов на ней. К наиболее распространённым заболеваниям, вызывающим раневые дефекты в полости рта, можно отнести афтозный стоматит. Современные методы лечения раневых поверхностей полости рта не подразумевают их закрытие от агрессивной окружающей среды, хотя это является предпочтительным условием успешной регенерации. Поэтому сегодня для заживления таких ран востребованы материалы, способные защитить от инфекций, механических повреждений и пищи. Перспективным материалом является сополимер на основе винилиденфторида с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТеФЭ), который обладает гидрофобными, пьезоэлектрическими свойствами, термической и химической стойкостью. Такие свойства позволяют использовать ВДФ-ТеФЭ как защитный материал от внешних негативных факторов, препятствующих регенерации ран в полости рта.

Рецессия дёсен также является распространённым патологическим состоянием, которое может приводить к потере зубов и другим серьёзным осложнениям. При значительной убыли дёсен обычно применяют хирургические операции с использованием аутотрансплантата, который иссекают из твёрдого нёба пациента. Недостаток операции состоит в её травматичности вследствие образования обширного раневого дефекта на нёбе. Для упрощения процедур хирургического вмешательства и предотвращения излишних повреждений вместо аутотрансплантатов используют полимерные материалы с регенерирующими свойствами. Биорезорбируемые имплантаты из синтетических полиэфиров поли(L-лактид-со-гликолид) (ПЛГА) широко применяются в медицине для регенерации живых тканей. Они обладают высокой биосовместимостью и механическими свойствами, что делает их перспективными для лечения рецессии дёсен.

Для создания из полимеров эластичных волокнистых структур традиционно используют метод электроспиннинга (электроформования). С помощью этого метода создают биосовместимые конструкции, по топологии напоминающие внеклеточный матрикс, что объясняет его востребованность для изготовления материалов тканевой инженерии. Электроспиннинг позволяет создавать нетканые полимерные материалы с диаметром волокон от нескольких нанометров до нескольких десятков микрон, которые обладают высоким соотношением площади поверхности к объёму, пористостью, прочностью и эластичностью.

Однако такие конструкции имеют определенные недостатки. Например, нетканые ВДФ-ТеФЭ материалы, изготовленные методом электроспиннинга, не обладают антибактериальными свойствами, что может привести к инфицированию раны. Нетканым ПЛГА материалам присущи гидрофобные свойства, что ограничивает прорастание в них мягких тканей и их использование для лечения рецессии дёсен, а отсутствие антимикробных свойств повышает риск послеоперационных осложнений. Перспективным способом придания нетканым материалам как антибактериальных, так и гидрофильных свойств является метод магнетронного распыления. Этот метод позволяет наносить на подложки больших размеров высокочистые, равномерные тонкие плёнки различного состава с сохранением первоначальной морфологии и механических свойств волокнистых полимерных материалов, изготовленных с помощью электроспиннинга.

Таким образом, нетканые полимерные материалы с улучшенными смачиваемостью и антибактериальными свойствами могут эффективно применяться для регенерации дефектов слизистой оболочки полости рта.

Степень разработанности темы. В настоящее время активно развиваются плазменные методы, как перспективный путь придания нетканым материалам антибактериальных и смачивающих свойств. За рубежом широко известны исследования научных групп на базе Национального университета Сингапура (Seeram Ramakrishna), Тайваньского университета Чанг Гунг (Jyh-Ping Chen) и Болонского университета (Maria Letizia Focarete). В России исследования нетканых материалов, модифицированных плазменными методами, активно ведутся в

Томском политехническом университете научными группами под руководством к.ф.-м.н. С.И. Твердохлебова и д.т.н. Р.А. Сурменева, а также в Ивановском государственном химико-технологическом университете к.т.н. Б.Л Горбергом.

Несмотря на наличие ряда научных публикаций, посвящённых плазменному модифицированию нетканых материалов, найдено крайне мало работ, в которых было бы продемонстрировано плазменное модифицирование методом магнетронного распыления меди и/или титана нетканых биостабильных ВДФ-ТеФЭ и биodeградируемых ПЛГА материалов. Отсутствуют исследования, посвящённые влиянию процесса одновременного магнетронного распыления меди и титана на физико-химические и биологические свойства ПЛГА скаффолдов.

Цель работы: разработка нетканых материалов (мембран и скаффолдов) с антибактериальными и биосовместимыми свойствами, полученных путём модифицирования их поверхности, для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Выбрать полимеры для изготовления нетканых материалов.
2. Выбрать метод изготовления нетканых материалов и метод модифицирования их поверхности с целью придания им антибактериальных свойств и усиления биосовместимости.
3. Разработать медико-технические требования (МТТ) к нетканым материалам с модифицированной поверхностью.
4. Разработать нетканые мембраны на основе ВДФ-ТеФЭ, модифицированные методом магнетронного распыления меди.
5. Разработать нетканые скаффолды из ПЛГА, модифицированные методом магнетронного распыления титана.
6. Разработать нетканые скаффолды на основе ПЛГА, модифицированные методом одновременного магнетронного распыления меди и титана.
7. Исследовать влияние плазменного модифицирования на структурно-морфологические, физико-химические и медико-биологические свойства разработанных нетканых материалов на основе ВДФ-ТеФЭ и ПЛГА.

8. Разработать программу для ЭВМ, предназначенную для моделирования антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента.

Научная новизна

1. Впервые проведено модифицирование поверхности биостабильных нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов методом магнетронного распыления меди, а также модифицирование поверхности биорезорбируемых нетканых ПЛГА материалов путём магнетронного распыления титана и одновременного распыления меди и титана. Разработанные режимы модифицирования нетканых материалов позволяют сохранить их первоначальную морфологию поверхности и механические свойства.

2. Установлено, что на поверхности нетканых ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления, образуются различные соединения меди с кислородом. Такие соединения позволяют придавать мембранам антибактериальные свойства и более высокий регенераторный потенциал.

3. Установлено, что при модифицировании биорезорбируемых ПЛГА скаффолдов методом магнетронного распыления титана образуются соединения титана с кислородом. Это позволяет придавать гидрофобному полимеру гидрофильные и сорбционные свойства, что значительно увеличивает скорость роста фибробластов десны человека на его поверхности.

4. Показано, что при модифицировании ПЛГА скаффолдов методом одновременного магнетронного распыления меди и титана на их поверхности образуются различные соединения титана и меди с кислородом. Изменением соотношения меди к титану (Cu/Ti) можно управлять выходом ионов меди с поверхности ПЛГА скаффолдов, что влияет на их цитотоксичность и антибактериальные свойства. Получены ПЛГА скаффолды с модифицированной поверхностью, одновременно обладающие биосовместимостью с фибробластами десны человека и антибактериальными свойствами.

5. Продемонстрировано, что разработанная программа для ЭВМ, предназначенная для моделирования антибактериальных свойств материалов медицинского назначения, позволяет прогнозировать уменьшение численности патогенных бактерий в зависимости от концентрации различных антибактериальных агентов.

Теоретическая значимость. Результаты работы имеют фундаментальное значение в области физики конденсированного состояния, а именно в развитии представлений о модифицировании нетканых полимерных материалов методом магнетронного распыления. Рост металлических тонких плёнок на поверхностях нетканых ПЛГА и ВДФ-ТеФЭ материалов происходит по трёхмерному островковому механизму (модели Вольмера – Вебера). При модифицировании нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов методом магнетронного распыления медной мишени на их поверхности образуются медь (Cu), её оксиды (Cu_2O , CuO), гидроксид ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) и фторид меди (CuF_2). Cu_2O и CuO возникают в результате взаимодействия атомов меди с молекулами кислорода из окружающего воздуха. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ образуется при взаимодействии Cu с находящимися в воздухе молекулами воды. Соединение CuF_2 может возникать в результате взаимодействия ионов меди со свободными ионами фтора на поверхности фторполимерных нетканых материалов. Одновременное распыление медной и титановой мишеней позволяет формировать металлическое покрытие непосредственно на поверхности волокон ПЛГА. Это подтверждается экспериментальными результатами АСМ и СЭМ, а также элементным картированием поверхности волокон. Результаты расширяют понимание влияния магнетронного распыления на структурно-морфологические, физико-химические и медико-биологические свойства нетканых ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга.

Практическая значимость. Выбранные режимы электроспиннинга позволяют изготавливать нетканые ПЛГА и ВДФ-ТеФЭ материалы с требуемой морфологией и механическими свойствами, а модифицирование при выбранных технологических режимах не изменяет эти свойства, но повышает биосовместимость и придаёт антибактериальную активность. Следовательно,

выбранные полимеры можно использовать для изготовления медицинских изделий – нетканых материалов, предназначенных для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций живых тканей. Модифицированные медью биостабильные нетканые ВДФ-ТеФЭ мембраны предназначены для регенерации неглубоких дефектов полости рта, биорезорбируемые ПЛГА скаффолды, модифицированные титаном и методом одновременного распыления меди и титана – для лечения рецессии дёсен. Результаты работы используются в учебном процессе.

Создан результат интеллектуальной деятельности (РИД) – программа для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств композитных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023661050 от 26 мая 2023 г.).

Объект исследования. Электроформованные нетканые материалы, изготовленные из прядильных растворов на основе сополимеров ВДФ-ТеФЭ и ПЛГА, модифицированные методами магнетронного распыления и/или одновременного магнетронного распыления, для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта.

Предмет исследования. Структурно-морфологические, физико-химические и медико-биологические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга и модифицированных методами магнетронного распыления и/или одновременного магнетронного распыления, предназначенных для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта.

Методы исследования и методология работы. Для исследования морфологии и физико-химических свойств нетканых материалов, модифицированных методами магнетронного распыления меди, титана и/или их одновременного распыления, применялись следующие методы: сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), атомно-силовая микроскопия (АСМ), энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (ЭДРС), рамановская спектроскопия, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС) и

рентгеноструктурный анализ. Пористость нетканых материалов оценивали гравиметрическим методом. Изменение массы от температуры определяли с использованием термогравиметрического анализа. Скорость выхода ионов меди в раствор определяли методом инверсионной вольтамперометрии. Также были проведены исследования механических характеристик при растяжении и смачиваемости методом сидячей капли. Антибактериальные и биологические свойства модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран были исследованы *in vitro* на золотистом стафилококке и *in vivo* на крысах линии Wistar. Биологические свойства модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов были оценены *in vitro* на фибробластах десны человека. Антибактериальные свойства модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов были определены *in vitro* с использованием метициллин-резистентного золотистого стафилококка. Биосовместимые свойства модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов оценивались *in vitro* на фибробластах десны человека и на эмбриональных фибробластах мыши – NIH/3T3.

Положения, выносимые на защиту:

1. Нетканые ВДФ-ТеФЭ мембраны, модифицированные на установке Катод-1М методом магнетронного распыления медной мишени при постоянном токе в атмосфере аргона, с удельной мощностью разряда $\sim 0,2$ Вт/см², током 0,2 А и длительностью модифицирования от 15 до 120 секунд, сохраняют средний диаметр волокон, краевой угол смачивания и механические свойства. Плазменная обработка в течении 120 секунд придаёт мембранам антибактериальные свойства вследствие появления на них меди с относительной концентрацией $\sim 10,6 \pm 0,5$ ат. % и способствует уменьшению площади дефектов слизистых оболочек у лабораторных животных (крысы линии Wistar).

2. Скаффолды на основе биodeградируемого сополимера ПЛГА, модифицированные с помощью вакуумной ионно-плазменной установки методом импульсного магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере аргона, при удельной мощности разряда ~ 12 Вт/см², токе $\sim 1,5$ А и длительности модифицирования $\sim 32,6$ минут, сохраняют средний диаметр волокон и механические свойства. Плазменное модифицирование титаном приводит к

образованию на поверхности скаффолдов соединений титана с кислородом: TiO, TiO₂, Ti₂O₃, что снижает краевой угол смачивания водой до 0° и позволяет увеличить численность фибробластов десны человека в ~ 7 раз.

3. При модифицировании в вакуумной ионно-плазменной установке ПЛГА скаффолдов методом одновременного импульсного магнетронного распыления титановой и медной мишеней в атмосфере аргона, с удельной мощностью разряда на медной мишени ~ 1 ÷ 3 Вт/см² и током ~ 0,15 ÷ 0,45 А; с удельной мощностью разряда на титановой мишени ~ 8 ÷ 12 Вт/см² и током ~ 1,1 ÷ 1,5 А при длительности модифицирования ~ 20 ÷ 30 минут, сохраняются их средний диаметр волокон, краевой угол смачивания и механические свойства. При увеличении соотношения меди к титану на ПЛГА скаффолдах в ~ 3,5 раза количество высвобождаемых ионов меди увеличивается в ~ 24 раза. С увеличением соотношения меди к титану усиливаются антибактериальные и цитотоксические свойства скаффолдов. ПЛГА образцы с расчётным соотношением меди к титану ~ 1 обладают как биосовместимыми свойствами по отношению к фибробластам десны человека, так и антибактериальными.

4. Разработанная программа для ЭВМ с использованием сигмоидальной функции вида $AA = \left(\frac{1}{1 + e^{-a(x-b)}} \right) \cdot 100\%$ позволяет прогнозировать антибактериальную активность (АА) модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом распыления меди и одновременного распыления меди и титана, соответственно. Были найдены калибровочные коэффициенты (a , b) для модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран: $a = 1,259$; $b = 5,986$. Для модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов, инкубированных вместе с бактериями в течение 6, 12 и 24 часов, были найдены следующие калибровочные коэффициенты: $a = 1,4776$; $b = 9,252$ (при 6 часах), $a = 1,504$; $b = 9,871$ (при 12 часах), $a = 1,356$; $b = 10,080$ (при 24 часах).

Реализация результатов работы. Результаты работы применялись при проведении *in vitro* и *in vivo* исследований в следующих учреждениях: ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения» (*in vitro*), ФГБУН «Институт

цитологии Российской академии наук» (*in vitro*), ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет» (*in vivo*). Результаты также использовались в НОЦ Б. П. Вейнберга ТПУ при выполнении научных проектов и при изучении раздела «Физические принципы модифицирования материалов биомедицинского назначения. Свойства, приобретаемые материалами в процессе модифицирования» в рамках дисциплины «Плазменные технологии в биологии и медицине» при подготовке студентов по специальности «14.03.02 Ядерная физика и технологии».

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы подтверждается использованием высокоточных измерительных приборов, большим объёмом полученных данных при одинаковых условиях. Результаты исследований согласуются между собой и могут быть объяснены в рамках современных представлений о протекающих физико-химических процессах со ссылками на литературные источники.

Личный вклад автора: автор диссертационной работы планировал и проводил экспериментальные исследования, анализировал и объяснял полученные результаты, проводил анализ литературных источников, подготавливал научные статьи в российских и зарубежных журналах, доклады на всероссийских и международных конференциях. Постановка задач и формулировка научных положений, выносимых на защиту, проводились совместно с научным руководителем канд. ф.-м. наук, доцентом С.И. Твердохлебовым. Работы по изготовлению ВДФ-ТеФЭ мембран методом электроспиннинга проводились совместно с канд. техн. наук Е.Н. Больбасовым. Работы по модифицированию ПЛГА скаффолдов титаном и медью-титаном на вакуумной ионно-плазменной установке проводились совместно с канд. техн. наук Д.В. Сиделёвым. Соавторы, которые занимались медико-биологическими исследованиями, указаны в списке основных публикаций по теме диссертации.

Диссертационная работа выполнена в рамках следующих проектов: РФФИ, соглашение № 16-13-10239 от 18.05.2016 по теме «Разработка и моделирование гибридных биodeградируемых скаффолдов с прогнозируемыми физико-химическими и иммуномодулирующими свойствами для тканеинженерных

конструкций»; ФЦП, соглашение № 14.575.21.0140 от 26.09.2017 по теме «Разработка остеостимулирующих имплантатов на основе гибридных технологий модифицирования их поверхности и компьютерного моделирования выхода лекарственных препаратов для персонализированной медицины при политравме и онкологии»; программа развития Томского политехнического университета «Приоритет 2030» (проект Приоритет-2030-НИП/ИЗ-011-0000-2022); Госзадание номер НИР в Минобрнауки (FSWW-2023-0007) и номер НИР в ТПУ (0.0007.ГЗБ.2023) «Разработка фундаментальных основ создания материалов, изделий, средств доставки, устройств контроля и визуализации для персонифицированной медицины и онкологии».

Апробация. Основные результаты работы были представлены на следующих конференциях: 2nd International Conference on Nanomaterials and Biomaterials (Барселона, Испания, 2018), VIII Международная научная конференция «Наноматериалы и нанотехнологии: проблемы и перспективы» (Саратов, Россия, 2018), 27-ая Всероссийская научно-техническая конференция с международным участием «ВАКУУМНАЯ ТЕХНИКА и ТЕХНОЛОГИИ – 2020» (Санкт-Петербург, Россия, 2020), Международная научно-техническая молодёжная конференция «Перспективные материалы конструкционного и функционального назначения» (Томск, Россия, 2020), XXI Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, Россия, 2020), XVII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, Россия, 2020), XXII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, Россия, 2021).

Публикации. Основные материалы диссертации изложены в 10 публикациях. Из них: 1 статья в журнале перечня ВАК, 8 публикаций в зарубежных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus, из них 3 статьи в журналах Q1 и 1 публикация, не входящая в базы данных Web of Science, Scopus и ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, основных выводов, заключения и списка использованной литературы, включающего 245 источников. Объем диссертации составляет 217 страниц, включая 68 рисунков, 6 таблиц и 8 приложений.

Глава 1. Слизистые оболочки полости рта, нетканые полимерные материалы, применяемые для их защиты и лечения, метод магнетронного распыления для придания им биоактивных свойств

1.1. Слизистые оболочки полости рта: структура, дефекты, рецессия дёсен, способы лечения

Полость рта – это часть пищеварительной системы, основной функцией которой является первичная обработка пищи (её измельчение и смешивание со слюной). На рисунке 1.1 представлено схематическое изображение полости рта с обозначением мягких тканей, покрытых слизистой оболочкой.

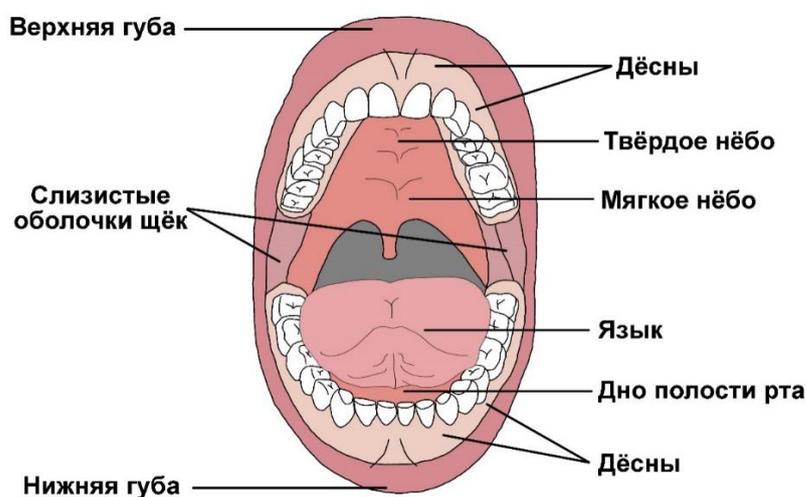


Рисунок 1.1 – Схематическое изображение полости рта с обозначением мягких тканей: язык, дёсны, губы, слизистые оболочки щёк, нёбо, дно полости рта

К мягким тканям полости рта относятся губы, щёки, язык, дёсны, нёбо и дно полости рта (Рисунок 1.1). Все мягкие ткани полости рта покрыты слизистой оболочкой, обеспечивающей естественную защиту тканей пародонта и зубов от бактериальной контаминации и механических повреждений.

Слизистые оболочки полости рта в зависимости от строения подразделяют на три группы: выстилаящая, жевательная и специализированная. Выстилаящая слизистая оболочка покрывает мягкое нёбо, полость рта, нижнюю поверхность языка, внутренние стороны щёк и губ, занимая около 60% от всей площади поверхности слизистых оболочек полости рта [1, 2]. Жевательная слизистая

оболочка покрывает дёсны и твёрдое нёбо, занимая около 25% от всей площади [2]. Специализированная слизистая оболочка, покрывающая спинку языка (верхнюю поверхность языка), занимает 15% от всей площади [2].

Выстилающая слизистая оболочка покрыта неороговевающим эпителием, в то время как жевательная слизистая оболочка покрыта ороговевающим эпителием и плотно прилегает к нижележащим тканям [2]. Поверхность специализированной слизистой оболочки выстлана нитевидными, конусовидными, грибовидными, жёлобовидными и листовидными сосочками, покрытыми ороговевающим эпителием, но области между сосочками не ороговевают [3]. Основной функцией поверхностного слоя специализированной слизистой оболочки является распознавание вкуса поступающей пищи.

Различные раневые дефекты и язвы на слизистой оболочке полости рта встречаются повсеместно [4]. Причинами появления таких дефектов и язв могут быть механические повреждения и заболевания полости рта, возникновение которых может препятствовать протеканию гомеостаза [5], что существенно снижает качество жизни пациента. К одним из наиболее распространённых заболеваний, вызывающих раневые дефекты и язвы в полости рта, можно отнести афтозный стоматит [6]. Хроническая форма афтозного стоматита наблюдается у 5 ÷ 25% населения Земли [6].

Для регенерации не больших раневых дефектов в полости рта и лечения афтозного стоматита врачами-стоматологами рекомендуется проведение следующих традиционных этапов:

1. обезболивание раны растворами с анестетиками;
2. антисептическая обработка раны растворами с лекарственными препаратами;
3. удаление некротической ткани в области раны;
4. нанесение на раневую поверхность геля с противовоспалительными, анестезирующими и антимикробными свойствами.

Такой способ лечения раневых дефектов не подразумевает их закрытие от агрессивной окружающей среды полости рта, населённой патогенными

микроорганизмами, что является желательным условием успешной регенерации. Более того, при этом раневой дефект не защищён от травмирования потребляемой пищей.

В работе [7] отмечено, что при регенерации хронических раневых дефектов требуется более 12 недель, и в течении этого времени раневые поверхности полости рта особенно уязвимы для инфекций и бактерий. Поэтому традиционный способ лечения не в полной мере удовлетворяет условиям успешной регенерации.

Таким образом, для заживления дефектов полости рта востребованы материалы, способные защищать раневую поверхность от инфекций, механических повреждений и пищи.

Также существует проблема патологической убыли слизистой оболочки полости рта – рецессия дёсен. Причиной убыли мягких тканей являются: опухоли [8], рак полости рта [9], различные инфекционные заболевания [9] и механические повреждения [8]. Уменьшение объёма слизистой оболочки может приводить к осложнениям, одним из наиболее распространённых и опасных является пародонтит [10]. На рисунке 1.2 представлено схематическое изображение здоровых зубов и зубов с рецессией дёсен на верхней челюсти человека.



Рисунок 1.2 – Рецессия дёсен на зубном ряде верхней челюсти человека
(генерализованная рецессия)

Основными причинами рецессии дёсен являются плохая гигиена полости рта, чрезмерное натяжение мягких тканей, агрессивная чистка зубов и неправильный прикус. Рецессия приводит к кровоточивости дёсен, повышенной

чувствительности зубов и непривлекательному их виду с обнажёнными корнями. Запущенные стадии заболевания могут привести к потере зубов.

Классификация по Миллеру является наиболее распространённой классификацией, используемой для оценки стадий рецессии [11]. Система разделяет рецессию на четыре класса в зависимости от степени оголения корня зуба и от потери прикрепления периодонтальной связки [12]:

- класс 1, рецессия менее 2 мм и нет потери прикрепления;
- класс 2, рецессия менее 2 – 4 мм и минимальный уровень потери прикрепления;
- класс 3, рецессия более 4 мм и средний уровень потери прикрепления;
- класс 4, рецессия более 4 мм и высокий уровень потери прикрепления.

На ранних стадиях развития рецессии (1 и 2 классы по Миллеру) используют следующие нехирургические способы лечения [13, 14]:

1. *Лечение гиперчувствительности дентина.* Пациенты, страдающие гиперчувствительностью дентина, могут избегать чистки чувствительных участков, что может привести к накоплению зубного налёта и дальнейшей рецессии, вызванной зубным налётом. В этом случае важно лечить чувствительность. Лечение гиперчувствительности дентина основано либо на блокировании дентинных канальцев, либо на предотвращении стимуляции нервов.

2. *Гигиена полости рта.* Использование противомикробных средств для полоскания рта. Нанесение гелей, укрепляющих структуру зуба. Использование более качественных видов зубных паст, зубных щёток и зубных нитей. Использование антибиотиков для устранения инфекций, вызывающих воспаление дёсен.

3. *Съёмные десневые виниры.* У некоторых пациентов отмечается генерализованная рецессия, которая создаёт не эстетичный вид и зачастую вызвана более серьёзным заболеванием – пародонтитом. Первым этапом решения такой проблемы выступает применение десневых виниров, которые представляют собой

съёмные протезы. Такие протезы позволяет скрыть большие объёмы отступивших мягких тканей.

На 3-ей и 4-ой стадиях развития рецессии по Миллеру в основном используют такие хирургические варианты лечения, как:

1. *Регенерация десневой ткани с использованием аутотрансплантатов* [12]. Аутотрансплантат – ткань, извлекаемая у самого пациента в качестве донорской [15].

2. *Регенерация десневой ткани с использованием полимеров*. Такие полимерные материалы обладают биосовместимыми свойствами и ускоряют заживление тканей десны [16, 17].

3. *Вестибулопластика*. Операция заключается в углублении преддверия полости рта, что позволяет расширить область прикреплённой десны. В результате проведения операции увеличивается объем десневой ткани, что позволяет решить проблему оголения корней зубов [18, 19].

4. *Френэктомия*. Хирургическая операция, предназначенная для иссечения уздечки, прикреплённой на уровне десневого края. Иссечение уздечки позволяет ослабить натяжение десны, что способствует профилактике заболеваний пародонта [12].

Для покрытия дефектов, вызванных убылью слизистых оболочек полости рта, в основном используются аутотрансплантаты, взятые с твёрдого неба пациента (субэпителиальные соединительнотканые аутотрансплантаты) [20, 21]. Они показали свою высокую эффективность и являются золотым стандартом регенерации и восстановления утраченных мягких тканей полости рта [9, 22]. Тем не менее, для получения таких трансплантатов необходимо иссекать мягкие ткани со здоровых участков, что увеличивает травматичность и риски постоперационных осложнений. Кроме того, размер аутотрансплантатов всегда ограничен площадью донорской ткани.

Таким образом, в настоящее время существует потребность в новых материалах для лечения рецессии дёсен, способных эффективно заживлять живые

ткани, не вызывать инфекционных осложнений и снижать травматичность хирургического вмешательства.

1.2. Электроспиннинг как эффективный способ изготовления материалов для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта и лечения рецессии дёсен

Впервые процесс электроспиннинга (электроформования) был описан в 1600 году Уильямом Гилбертом [23] и в 1887 году метод был опробован для изготовления волокнистых материалов [23]. Несмотря на свою долгую историю, метод электроспиннинга начал активно развиваться относительно недавно (середина 1990-х годов) [24].

На рисунке 1.3 приведена принципиальная схема установки электроспиннинга.

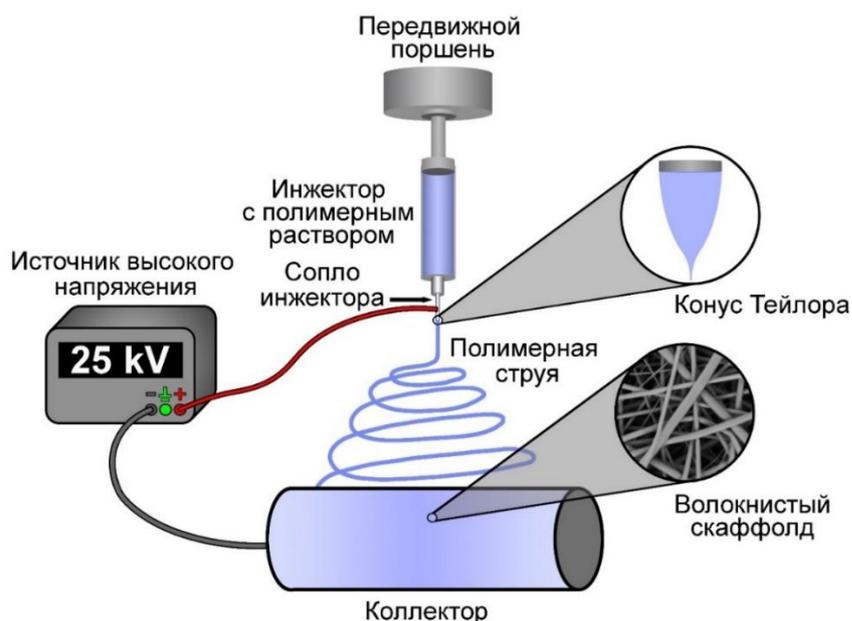


Рисунок 1.3 – Принципиальная схема установки электроспиннинга

Передвижной поршень выдавливает полимерный прядильный раствор из инжектора (Рисунок 1.3). Между соплом инжектора и коллектором создаётся высокая разность потенциалов от 5 до 30 кВ [25]. Кулоновские силы притягивают свободную поверхность полимерного раствора к коллектору, преодолевая силы поверхностного натяжения. В результате взаимодействия двух сил образуется конус Тейлора (Рисунок 1.3). При критическом значении разности потенциалов,

при котором работа сил кулоновского взаимодействия способна преодолеть свободную энергию поверхности, из кончика конуса образуется струя полимера, вытягиваемая вдоль линий напряжённости электрического поля. Такая струя некоторое время движется по линейной траектории (Рисунок 1.3) [26], пока на неё не начинают действовать изгибающие силы, возникающие по причине неравномерного распределения заряда в объёме струи [27]. Воздействие изгибающих сил приводит к отклонению полимерной струи от линий напряжённости электрического поля и образованию витков конусообразной спирали (Рисунок 1.3) [26]. Такая спираль возникает по причине силы Лоренца, действующей на одноименные заряды в каждой точке струи [28]. В результате действий сил Кулоновского отталкивания одноименных зарядов увеличивается диаметр каждого нового витка спирали (Рисунок 1.3) и происходит утонение полимерной струи. Образование спирали и тонкой струи полимера способствует высокой скорости испарения растворителя в воздушной среде. В итоге, на коллектор осаждаются отдельные полимерные нити, растворитель в которых успел испариться. В результате образуется волокнистая полимерная структура, представляющая собой хаотично переплетённые волокна.

Благодаря тому, что с помощью электроспиннинга, использующего прядильный раствор на основе биосовместимых полимеров, можно создавать высокопористые волокнистые структуры с необходимыми механическими свойствами [29], он стал активно применяться для создания материалов, способствующих регенерации мягких тканей [30], в том числе и в полости рта [31, 32]. Особенность метода заключается в возможности получать нетканые материалы с диаметром волокон от десятков нанометров до нескольких микрометров [33], которые имеют высокое соотношение площади поверхности к объёму [24] и способны имитировать топологию внеклеточного матрикса [34]. Электроформованные волокнистые полимерные материалы обладают чрезвычайно высокой биосовместимостью с живыми тканями организма [35]. К примеру, в работе [35] методом электроспиннинга были изготовлены скаффолды из

коллагена/хитозана, напоминающие по структуре внеклеточный матрикс. Было показано, что через 1 неделю в результатах *in vivo* на мышцах все скаффолды были инфильтрованы грануляционной тканью и происходил процесс васкуляризации.

К технологическим преимуществам метода можно отнести возможность его масштабирования до уровня промышленного производства [25], лёгкость в автоматизации и управления параметрами электроспиннинга: скоростью расхода раствора, напряжением, расстоянием до коллектора, типом коллектора [36].

Тем не менее метод электроспиннинга чрезвычайно чувствителен к характеристикам прядильного раствора и внешним условиям. Это связано с тем, что полимерная струя может подвергаться различным видам нестабильностей [37]. При этом некоторые типы полимеров плохо подходят для электроспиннинга. К примеру, проблематично изготавливать скаффолды из полисахаридов, поскольку они обладают запутанной молекулярной структурой и плохо растворяются в органических растворителях [38].

Помимо электроспиннинга, наиболее распространёнными методами изготовления полимерных материалов медицинского назначения являются: литье растворителя с выщелачиванием частиц, фазовая сепарация и 3D принтинг. По сравнению с этими методами электроспиннинг позволяет формировать материалы с высоким соотношением площади поверхности к объёму, которые, как уже говорилось, имитируют структуру внеклеточного матрикса. Технологическими параметрами процесса электроспиннинга легко варьировать, что позволяет изготавливать материалы с оптимальными физико-химическими и механическими свойствами. Эти достоинства метода нивелируют существующие недостатки, связанные с высокой зависимостью процесса электроспиннинга от условий среды и ограничениями по выбору прядильного раствора.

Таким образом, для изготовления биосовместимых материалов в работе был использован метод электроспиннинга благодаря наличию у него ряда преимуществ, которые были описаны в рамках этого раздела.

1.3. ВДФ-ТеФЭ как перспективный полимер для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта

Поли(винилиденфторид-тетрафторэтилен) (ВДФ-ТеФЭ) – сополимер, состоящий из мономерных звеньев винилиденфторида и тетрафторэтилена. Структурная формула ВДФ-ТеФЭ на рисунке 1.4.

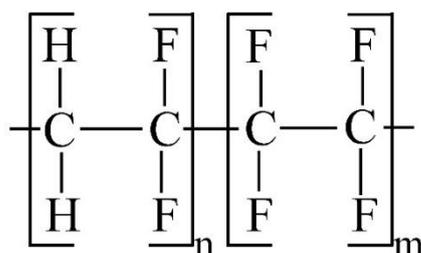


Рисунок 1.4 – Структурная формула ВДФ-ТеФЭ

По сравнению с ПВДФ, его сополимеры обладают большей кристалличностью и концентрацией β -фазы, которая может возникать без использования механического вытягивания и электрического поля [39–41].

Сополимер ВДФ-ТеФЭ совмещает преимущества двух фторполимеров и позволяет изготавливать материалы с высокими механическими характеристиками, гидрофобными свойствами, сильными пьезоэлектрическими свойствами, высокой термической и химической стабильностью. Пьезоэлектрические свойства сополимера обусловлены наличием в мономерном звене винилиденфторида [42]. Такие свойства положительно влияют на скорость пролиферации живых клеток [43]. Нетканые материалы на основе ВДФ-ТеФЭ, изготовленные методом электроспиннинга, имеют предел прочности $15,3 \pm 2,6$ МПа и максимальное удлинение при разрыве $122 \pm 54\%$ [39], а их краевой угол смачивания водой составляет $129 \pm 6^\circ$ [44].

Гидрофобные свойства нетканых материалов на основе ВДФ-ТеФЭ позволят удалять их без повреждения заживляемых раневых поверхностей. Благодаря высокой эластичности и механической стойкости нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов, они будут сохранять свою целостность несмотря на испытываемые механические нагрузки. Сильные пьезоэлектрические свойства нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов потенциально позволят быстрее заживлять рану.

Таким образом, для заживления раневых дефектов полости рта перспективными материалами являются нетканые ВДФ-ТеФЭ материалы, изготовленные методом электроспиннинга. Благодаря своим свойствам такие материалы будут способны защищать дефект от инфекций, механических повреждений и пищи.

1.4. ПЛГА как перспективный полимер для лечения рецессии дёсен

Поли(L-лактид-со-гликолид) (ПЛГА) – это сополимер, состоящий из структурных звеньев полилактида и полигликолида. ПЛГА синтезируется посредством полимеризации с раскрытием цикла двух мономеров: молочной и гликолиевой кислот. Структурная формула ПЛГА отображена на рисунке 1.5.

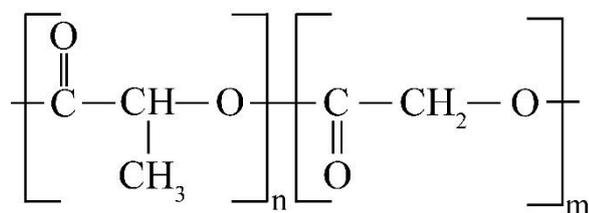


Рисунок 1.5 – Структурная формула ПЛГА

ПЛГА является наиболее изученным биodeградируемым сополимером синтетического происхождения [45]. По сравнению с другими алифатическими полиэфирами скорость разложения ПЛГА можно контролировать, изменяя соотношение фаз лактида/гликолида в полимере. Температура стеклования ПЛГА варьируется в диапазоне от 45 до 60 °С [46] и зависит от соотношения фаз лактида/гликолида и молекулярного веса. Температура стеклования ПЛГА скаффолдов при соотношении лактида и гликолида 50/50 мол. % составляет 45 °С [47], при соотношении 75/25 мол. %, температура стеклования ПЛГА составляет 50 °С [48].

Краевой угол смачивания для электроформованных ПЛГА скаффолдов ($M_w = 66600 \div 107000$ г/моль, 75/25 мол. %) составляет $102 \pm 7^\circ$ [49]. Краевой угол смачивания для волокнистых ПЛГА скаффолдов ($M_w = 100000$ г/моль, 90/10 мол. %) составляет $106 \pm 3^\circ$ [50]. ПЛГА скаффолды обладают высокими механическими свойствами, которые зависят от молекулярной массы [51] и соотношения

лактида/гликолида. В работе [52] было показано, что электроформованные PLLGA скаффолды с соотношением фаз 50/50 мол. % и 75/25 мол. % обладают пределом прочности $1,8 \pm 0,2$ МПа и $4,7 \pm 0,3$ МПа и максимальным удлинением при разрыве $145 \pm 32\%$ и $113 \pm 12\%$, соответственно. В работе [53] было отмечено, что 50/50 мол. %, 75/25 мол. % и 85/15 мол. % PLLGA разлагаются в течении 1 ÷ 2 месяца, 4 ÷ 5 месяцев и 5 ÷ 6 месяцев, соответственно. Процесс разложения PLLGA происходит посредством химического гидролиза связей сложных эфиров, в результате которого образуются молочные и гликолиевые кислоты. Такие кислоты выводятся из организма нормальными метаболическими путями [54]. Продукты деградации PLLGA могут осаждаться в почках и печени, что приводит к выходу продуктов деградации в кровеносную систему [55].

PLLGA является одним из наиболее широко используемых материалов синтетического происхождения, из которых изготавливают нетканые скаффолды для тканевой инженерии [56]. Сополимер PLLGA был одобрен для клинического применения Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США [56]. Такой сополимер обладает высокой биосовместимостью с живыми тканями. Например, в работе [57] была показана возможность эффективной регенерации кожных покровов у крыс. При трансплантации PLLGA скаффолдов в ткани животных наблюдалось существенное увеличение количества кровеносных сосудов, снижение воспалительной реакции и уменьшение образования фиброзной ткани [57].

Биорезорбируемость и высокие биосовместимые свойства позволяют активно применять нетканые PLLGA материалы для различных применений в биомедицине, в том числе и для регенерации мягких тканей полости рта. Благодаря использованию PLLGA можно легко изготовить нетканый материал с оптимальными механическими свойствами для их последующего применения при лечении рецессии дёсен.

Таким образом, перспективным способом лечения рецессии является применение электроформованных материалов на основе PLLGA. Благодаря своим свойствам такие материалы будут способствовать ускоренной регенерации мягких

тканей дёсен и не будут требовать повторного хирургического вмешательства для их удаления.

1.5. Медные тонкие плёнки как эффективный способ придания нетканым ВДФ-ТеФЭ материалам антибактериальных свойств

Ранее в предыдущих разделах была показана перспективность использования нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов для лечения раневых дефектов слизистых оболочек полости рта, так как они способны защищать раневые поверхности от механических повреждений и пищи. Однако фторполимеры, из которых состоит ВДФ-ТеФЭ не обладают антибактериальными свойствами [58, 59].

Для придания электроформованным волокнистым материалам таких свойств в них обычно добавляют: 1) антибиотики и антисептики (метронидазол [60, 61], хлоргексидин [62, 63], тетрациклины [64, 65]); 2) металлосодержащие наночастицы с антибактериальными свойствами (серебро [66, 67], цинк [68, 69], медь [70, 71]); 3) материалы натурального происхождения с антибактериальными свойствами (хитозан [72, 73], экстракты растений [74, 75]).

Преимуществом использования антибиотиков является то, что они являются наиболее часто используемыми веществами с противомикробными свойствами [76]. Антибиотики широкого спектра применения позволяют эффективно бороться с различными разновидностями патогенных бактерий [77, 78]. Однако, длительное применение фармакологических препаратов приводит к возникновению резистивных к антибиотикам бактерий [79], что является серьёзной проблемой здравоохранения [80]. Поэтому антибиотики теряют свою эффективность, и научные коллективы ищут им достойные альтернативы.

Большим преимуществом использования металлосодержащих наночастиц в качестве антимикробного агента является тот факт, что металлы могут подавлять жизнедеятельность бактерий и патогенных микроорганизмов, устойчивых к различным видам антибиотиков [81, 82]. Однако, наночастицы металлов токсичны и для клеток организма [83]. В то же время наночастицы не обладают высокой стабильностью, что приводит к необходимости добавления к ним различных

стабилизирующих агентов [84]. Такие недостатки ограничивают применение наночастиц в медицине.

Одним из наиболее широко распространённых материалов натурального происхождения с антибактериальными свойствами является хитозан. Преимуществом хитозана является то, что помимо высокой биосовместимости и биodeградируемости, он обладает антибактериальными свойствами [85]. К недостаткам волокнистых материалов на основе хитозана можно отнести сложность их формования методом электроспиннинга и относительно низкие механические свойства [86]. Другим недостатком хитозана является то, что из-за плохой растворимости он не может проявлять антибактериальную активность в средах с кислотностью выше 6,5 рН [87], в то время как средняя кислотность слюны человека в нормальном состоянии составляет 6,8 рН [88].

Среди вышеперечисленных агентов с антибактериальными свойствами металлосодержащие наночастицы являются наиболее подходящими. Они позволяют предотвращать инфекции, вызванные устойчивыми к антибиотикам бактериями, и не теряют свои свойства в щелочной среде полости рта. Тем не менее, высокая токсичность и химическая нестабильность наночастиц не позволяет в полной мере использовать их для регенерации мягких тканей полости рта.

По сравнению с наночастицами металлосодержащие тонкие плёнки обладают относительно низкой токсичностью, сохраняя при этом высокие показатели антибактериальной активности [89, 90]. Среди наиболее используемых металлов с антибактериальными свойствами, таких как серебро, цинк и медь, последняя обладает наименьшей цитотоксичностью. Так в работе [91] было показано, что ионы меди по сравнению с ионами серебра и цинка обладают более низкой цитотоксичностью по отношению к фибробластам мыши L929. В то же время антибактериальные свойства ионов меди в отношении бактерий *S. epidermidis* (АТСС 35984) незначительно слабее, чем у ионов серебра.

Тем не менее, медные плёнки всё равно могут быть токсичны и нежелательно, чтобы они контактировали непосредственно с живыми тканями человека. Для решения такой проблемы плёнку можно нанести только на одну

поверхность нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов, которая не будет покрывать рану, а будет обращена в сторону полости рта. Это позволит нетканым ВДФ-ТеФЭ материалам эффективно защищать дефект от патогенных микроорганизмов, не оказывая при этом негативного влияния на скорость регенерации.

Таким образом, перспективным способом придания нетканым ВДФ-ТеФЭ материалам антибактериальных свойств является нанесение медных тонких плёнок. Такие плёнки не будут обладать высокой токсичностью и смогут эффективно подавлять антибиотикоустойчивые патогенные микроорганизмы. Для того, чтобы плёнка не оказывала негативного влияния на скорость заживления, её можно нанести на ту сторону ВДФ-ТеФЭ материала, которая не будет контактировать с раной.

1.6. Тонкие плёнки титана как перспективный способ придания гидрофильных свойств нетканым ПЛГА материалам

Ранее было продемонстрировано, что нетканые ПЛГА материалы являются перспективными при лечении рецессии дёсен. Предполагается, что такие материалы позволят эффективно наращивать мягкие ткани в области дёсен, не вызывая инфекционных осложнений и не требуя операции по их удалению. Тем не менее ПЛГА материалы гидрофобны [92], что существенно ограничивает их биосовместимость [93, 94]. Гидрофильные свойства на нетканых ПЛГА материалах способствуют адгезии и пролиферации клеток [95], что является важным условием эффективной интеграции и регенерации живых тканей.

Для придания таких свойств на поверхность полимеров наносят гидрофильные материалы [96, 97], например, их формируют из полимеров с гидрофильными свойствами [98–100], или их поверхность модифицируют плазменными методами [101–103]. Так, в работе [104] с целью придания скаффолдам из поликапролактона (ПКЛ) гидрофильных свойств их модифицировали в низкочастотной плазме в атмосфере кислорода. После модифицирования краевой угол смачивания ПКЛ скаффолдов уменьшился с $113 \pm 5^\circ$ до 0° , что положительно повлияло на их биосовместимость.

Недостатком электроформованных материалов, изготовленных из полимеров с гидрофильными свойствами, является то, что они зачастую уступают по механическим свойствам материалам из гидрофобных полимеров. К примеру, добавление гидрофильного желатина в состав скаффолда из поли(L-лактида)-сополи(ε-капролактона) уменьшало его предел прочности на ~50 % [105].

Модифицирование поверхности и нанесение гидрофильных материалов способствует улучшению смачиваемости скаффолдов без негативного влияния на их прочностные свойства [97], что делает такие способы перспективными. Отдельно можно выделить модифицирование поверхности путём нанесения на неё тонких плёнок титана. Титан является наиболее распространённым металлом, применяемым в медицине [106]. Титан по своей природе обладает гидрофильными свойствами [107]. Его часто используют как материал для дентальных [108] и ортопедических [109] имплантатов благодаря высокой коррозионной стойкости, износостойкости, твёрдости и биосовместимости. Нанесение титановых плёнок на поверхность скаффолдов, позволяет придавать им гидрофильные свойства с сохранением механических характеристик [110].

Таким образом, нанесение тонких плёнок титана на поверхность гидрофобных ПЛГА материалов позволит сохранить их первоначальные механические свойства и значительно усилить биосовместимость за счёт улучшения смачиваемости.

1.7. Медно-титановые тонкие плёнки как эффективный способ придания нетканым ПЛГА материалам антибактериальных и биосовместимых свойств

Для исключения инфекционных осложнений при лечении рецессии дёсен с использованием нетканых ПЛГА материалов необходимо, чтобы они обладали антибактериальными свойствами. Как было показано ранее, перспективным способом является нанесение тонких медных плёнок. Но такие плёнки могут быть токсичны, следовательно, стоит исключить их прямой контакт с тканями человека. Перспективным решением такой проблемы является нанесение медно-титановых тонких плёнок. К примеру, в работе [111] было продемонстрировано, что нанесение

таких плёнок на подложки из титанового сплава позволяет придавать им антибактериальные свойства, и после полного высвобождения ионов меди композитная плёнка стала обладать высокой биосовместимостью с остеобластами человека MG-63. В работе, опубликованной в журнале Nature [112], было показано, что при увеличении в плёнках соотношения меди к титану их антибактериальные свойства усиливаются. Это подтверждает то, что, изменяя концентрацию меди и титана, можно контролировать антибактериальные и биосовместимые свойства медицинских материалов.

Таким образом, перспективным способом придания нетканым ПЛГА скаффолдам антибактериальных свойств и сохранения их биосовместимости, является нанесение медно-титановых тонких плёнок.

1.8. Магнетронное распыление как эффективный способ нанесения титановых, медных и медно-титановых тонких плёнок

В настоящее время для нанесения на имплантаты металлических тонких плёнок с антибактериальными и биосовместимыми свойствами используются следующие методы: золь-гель технология [113, 114], микродуговое оксидирование [115, 116], химическое осаждение из газовой фазы [117], магнетронное распыление [111, 118]. По сравнению с микродуговым оксидированием и химическим осаждением метод магнетронного распыления происходит при относительно низких температурах, что позволяет сохранить первоначальную морфологию, структуру и механические свойства модифицируемых материалов [110]. Синтез плёнок золь-гель технологией обычно происходит при комнатной температуре, тем не менее, она не подходит для формирования плёнки на поверхности волокнистых материалов, так как требуется гладкая поверхность без неровностей и шероховатостей [119]. Метод магнетронного распыления можно использовать для нанесения тонких плёнок на материалы со сложной топологией поверхности [120]. Как видно, метода обладает явными преимуществами по сравнению с другими способами нанесения плёнок.

На рисунке 1.6 приведена принципиальная схема установки магнетронного распыления.

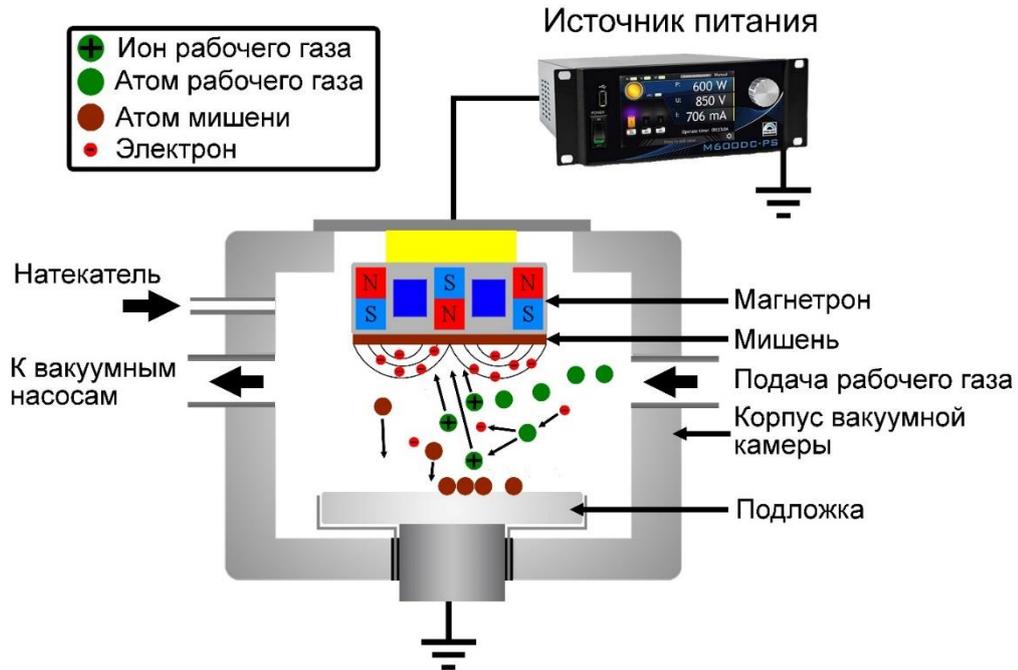


Рисунок 1.6 – Принципиальная схема установки магнетронного распыления

Процесс нанесения тонких плёнок методом магнетронного распыления начинается с откачки атмосферного воздуха из камеры до давления $10^{-3} - 10^{-2}$ Па. Затем напускают рабочий газ, который увеличивает давление в камере до $0,1 - 1$ Па. Источник питания создаёт отрицательный потенциал на катод-магнетроне и положительный на аноде. Магнитное поле, генерируемое магнетроном, заставляет электроны двигаться по циклоиде, скапливаясь в прикатодной области. Электроны в прикатодной области взаимодействуют с атомами рабочего газа. В результате неупругих столкновений атомов и электронов формируются ионы рабочего газа. В результате образуется плазма высокой плотности, локализованная в прикатодной области и состоящая из положительно заряженных ионов рабочего газа и электронов. Ионы, обладая большей массой по сравнению с электронами, ускоряются в электрическом поле до энергий $0,7 - 5,0$ кэВ и налетают на катод под отрицательным потенциалом. Летя на катод, ускоренные ионы рабочего газа выбивают отдельные атомы мишени, тем самым происходит распыление приповерхностных слоёв мишени. Выбитые атомы мишени начинают движение в

сторону подложки. При взаимодействии налетающих атомов мишени с поверхностью подложки происходит преобразование остаточной кинетической энергии атомов в тепловую энергию. При полной потере кинетической энергии атом мишени осаждается на поверхности подложки. В результате на её поверхности образуется покрытие, состоящее из атомов мишени.

Магнетронным распылением можно формировать высококачественные тонкие плёнки с заданным химическим составом и хорошей адгезией [121]. Нанесение плёнок с помощью магнетронного распыления позволяет сохранять первоначальные морфологию и механические свойства нетканых материалов [122]. Таким методом можно формировать как титановые, так медные и медно-титановые плёнки.

К недостаткам процесса можно отнести необходимость применения вакуумной камеры, предназначенной для откачки атмосферного воздуха и последующего инициирования газового разряда.

Методом магнетронного распыления смогли получить биосовместимые гидрофильные титансодержащие тонкие плёнки [90, 123]. Так, Ф.М. Эль-Хоссари и др. создали гидрофильные тонкие плёнки, содержащие титан, которые показали хорошие трибологические свойства и высокую биосовместимость с клетками остеобластов [123]. Кроме того, метод успешно применяется для нанесения гидрофильных титановых тонких плёнок на поверхность гидрофобных биodeградируемых полимерных скаффолдов [97].

В настоящее время можно найти множество исследований, демонстрирующих эффективность метода для нанесения медьсодержащих тонких пленок с антибактериальными свойствами [111, 124, 125]. Более того, он не редко используется для придания антибактериальных свойств волокнистым и волоконным материалам [126–128]. Например, распыление меди позволило придать хлопковой ткани антибактериальные свойства [127].

При одновременном распылении медной и титановой мишени можно получать соответствующие металлические тонкие плёнки, которые обладают антибактериальными и биосовместимыми свойствами [111].

Следовательно, модифицирование поверхности полимерных скаффолдов методом магнетронного распыления медной мишени позволит придать им антибактериальные свойства, а модифицирование методом магнетронного распыления титановой мишени позволит придать гидрофильные свойства, тем самым усиливая их биосовместимость. Одновременное распыление меди и титана даёт возможность формировать медно-титановые тонкие плёнки, обладающие одновременно антибактериальными и биосовместимыми свойствами.

Таким образом, метод магнетронного распыления был выбран в качестве способа нанесения медных, титановых и медно-титановых тонких плёнок на поверхности нетканых ВДФ-ТеФЭ и ПЛГА материалов.

1.9. Выводы по первой главе

Медицинские материалы, предназначенные для регенерации дефектов слизистых оболочек, вызванных афтозным стоматитом, должны эффективно препятствовать проникновению бактерий в рану, защищать её от механических повреждений, не травмировать раневую поверхность при его снятии. В литературе такие материалы часто называются мембранами, поскольку их основной функцией является защитная. На основании анализа научно-технических источников для создания мембран было предложено использовать следующие материалы и методы:

1. Биостабильный сополимер поли(винилиденфторид-тетрафторэтилен) (ВДФ-ТеФЭ), который обладает гидрофобными свойствами и термической стойкостью. Благодаря гидрофобным свойствам сополимера ВДФ-ТеФЭ, материалы из него не будут травмировать раневую поверхность при их снятии. Термическая стойкость позволит провести плазменное модифицирование его поверхности без деструкции.

2. Метод электроспиннинга, который позволяет создавать механически стойкие и эластичные нетканые мембраны на основе сополимера ВДФ-ТеФЭ, сохраняющие свою целостность при нагрузках, возникающих в полости рта. Кроме

того, благодаря малому размеру пор такая мембрана будет препятствовать проникновению частиц пищи в рану, но при этом будет воздухопроницаемой.

3. Метод магнетронного распыления медной мишени, который придаёт ВДФ-ТеФЭ мембранам антибактериальные свойства. Это позволит препятствовать проникновению бактерий в рану.

Для лечения рецессии дёсен медицинский материал должен способствовать разрастанию мягких тканей в месте рецессии и уменьшению её глубины, не требовать повторной операции по его удалению, препятствовать возникновению послеоперационных осложнений. Поскольку основной функцией такого материала является интеграция с тканями дёсен и их восстановления, в дальнейшем, как принято в научной литературе, он будет называться скаффолдом. На основании анализа научно-технических источников для создания скаффолдов было предложено использовать следующие материалы и методы:

1. Биodeградируемый сополимер поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА), который благодаря своей высокой биосовместимости и способности к резорбции нашёл своё широкое применение в тканевой инженерии. Благодаря этому материалы на основе ПЛГА не токсичны для организма и не требуют проведения дополнительной операции по их удалению.

2. Метод электроспиннинга, позволяющий создавать биосовместимые скаффолды на основе ПЛГА, имитирующие топологию внеклеточного матрикса и обладающие требуемыми механическими свойствами. Такая структура и механические свойства ПЛГА скаффолдов будут способствовать пролиферации клеток в области дёсен.

3. Метод магнетронного распыления титановой мишени позволит придать гидрофильные свойства скаффолдам на основе ПЛГА, что существенно увеличит скорость пролиферации клеток в области десневых дефектов. Это, в свою очередь, будет способствовать разрастанию мягких тканей в месте рецессии.

4. Метод одновременного магнетронного распыления медной и титановой мишеней, который придаст поверхности ПЛГА скаффолдов антибактериальные свойства и сохранит их биосовместимость.

Таким образом, перспективным способом защиты неглубоких дефектов мягких тканей является использование мембраны на основе биостабильного сополимера ВДФ-ТеФЭ, модифицированного методом магнетронного распыления медной мишени.

Перспективными путями лечения рецессии дёсен является применение скаффолдов на основе биodeградируемого полимера ПЛГА, модифицированных титаном и модифицированных методом одновременного распыления меди и титана.

1.10. Цели и задачи исследования

Цель работы: разработка нетканых материалов (мембран и скаффолдов) с антибактериальными и биосовместимыми свойствами, полученных путём модифицирования их поверхности, для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Выбрать полимеры для изготовления нетканых материалов.
2. Выбрать метод изготовления нетканых материалов и метод модифицирования их поверхности с целью придания им антибактериальных свойств и усиления биосовместимости.
3. Разработать медико-технические требования (МТТ) к нетканым материалам с модифицированной поверхностью.
4. Разработать нетканые мембраны на основе ВДФ-ТеФЭ, модифицированные методом магнетронного распыления меди.
5. Разработать нетканые скаффолды из ПЛГА, модифицированные методом магнетронного распыления титана.
6. Разработать нетканые скаффолды на основе ПЛГА, модифицированные методом одновременного магнетронного распыления меди и титана.
7. Исследовать влияние плазменного модифицирования на структурно-морфологические, физико-химические и медико-биологические свойства разработанных нетканых материалов на основе ВДФ-ТеФЭ и ПЛГА.

8. Разработать программу для ЭВМ, предназначенную для моделирования антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента.

Глава 2. Экспериментальное оборудование, материалы и методы исследования

2.1. Полимеры, применяемые для изготовления нетканых материалов

Для изготовления нетканых мембран использовали сополимер винилиденфторида с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТеФЭ) (АО «Галополимер», Кирово-Чепецк, Россия), который представляет собой гранулы белого цвета. Для изготовления нетканых скаффолдов применяли белые гранулы из поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА) с соотношением лактида/гликолида – 85/15 (Purasorb® PLG 8523, Purac, Нидерланды).

Растворы для электроспиннинга получали путем растворения:

- ВДФ-ТеФЭ в ацетоне (C_3H_6O , Экос-1, Москва, Россия);
- ПЛГА в гексафторизопропаноле ($C_3H_2F_6O$, ПИМ-Инвест, Москва, Россия).

Для модифицирования поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран использовали медную мишень (Cu , чистота 99,99 %) площадью 224 см² и толщиной 6 мм. Форма мишени представляла собой треугольник со скошенными углами. Нанесение меди проходило с использованием рабочего газа аргона (Ar , чистота 99,99 %).

Для модифицирования ПЛГА скаффолдов применялись металлические мишени из титана (Ti , чистота 99,95 %) и меди (Cu , чистота 99,95 %), форма которых представляла собой диск диаметром 90 мм и толщиной 8 мм. Титановые и медно-титановые плёнки наносили в атмосфере рабочего газа аргона (Ar , чистота 99,99 %).

2.2. Экспериментальное оборудование

2.2.1. Установка электроспиннинга

Нетканые ВДФ-ТеФЭ мембраны и ПЛГА скаффолды были изготовлены на установке NANON-01A (MECC Co., Фукуока, Япония), расположенной в лаборатории плазменных гибридных систем Томского политехнического университета. ВДФ-ТеФЭ мембраны были разработаны совместно с кандидатом

технических наук Большасовым Евгением Николаевичем. На рисунке 2.1 отображена установка электроспиннинга NANON-01A (а) и её внутренние узлы (б).

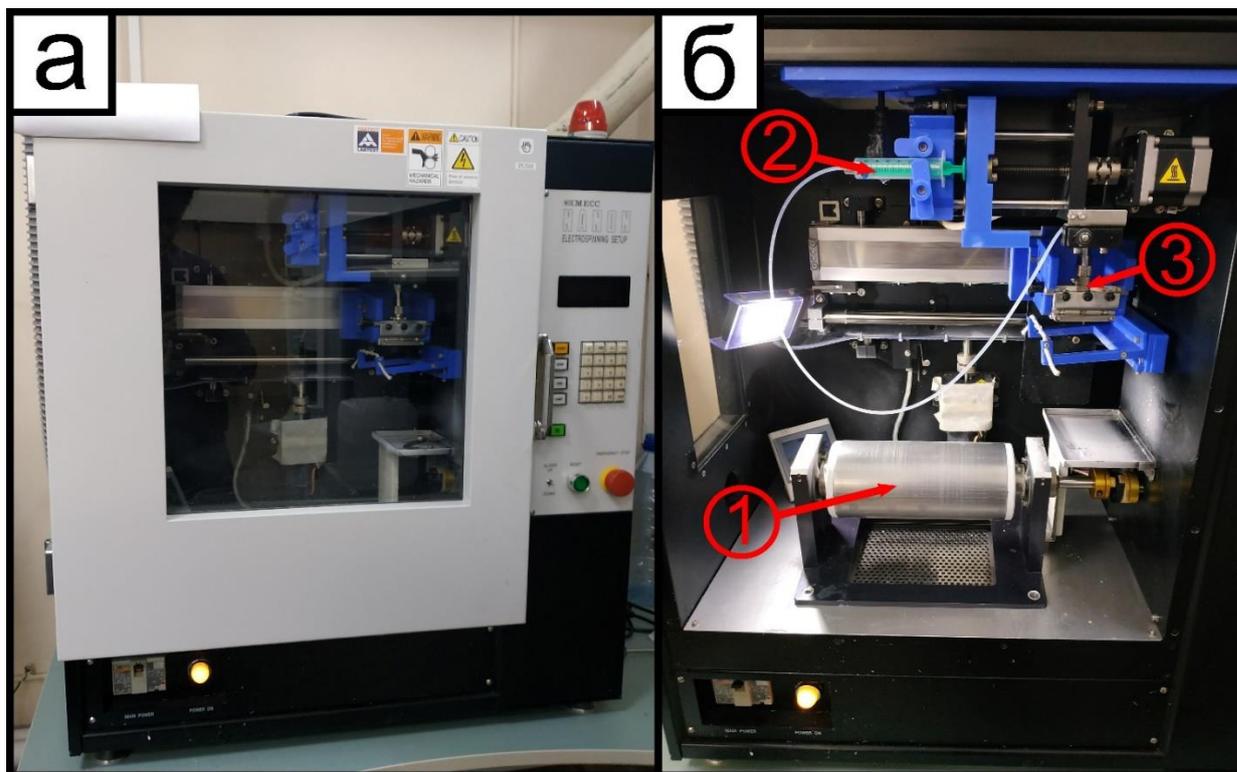


Рисунок 2.1 – Изображение установки NANON-01A (а) и её внутренних узлов (б).

К основным узлам можно отнести: сборочный коллектор (1), дозирующее устройство (2), привод инжекторов и высоковольтный источник (3)

Установка NANON-01A представляет собой металлический блок с застеклённой дверью (Рисунок 2.1а). Внутри расположены механические узлы установки (Рисунок 2.1б). На правой панели установки (Рисунок 2.1а) расположена органы управления, с помощью которых задаются технологические параметры электроспиннинга: напряжение между инжектором и коллектором, скорость вращения сборочного коллектора, частота очистки инжектора, скорость расхода прядильного раствора, скорость движения инжектора. Значения заданного напряжения, времени до окончания процесса электроспиннинга, скорость расхода отображаются на дисплее. Установка снабжена различными элементами безопасности: высоковольтная блокировка, дверной замок, кнопка аварийной остановки, лампа высокого напряжения, фильтр очистки выхлопных газов.

В таблице 2.1 представлены технологические параметры установки электроспиннинга NANON-01A.

Таблица 2.1 – Технологические характеристики установки

Получаемые объекты	Нетканые полимерные волокна и отдельные частицы
Напряжение, кВ	от 0,5 до 30
Ток, мкА	50
Скорость перемещения инжектора, мм/с	от 0 до 300
Скорость выхода полимерного раствора, мл/ч	от 0,1 до 60
Скорость вращения коллекторов, об/мин	Барабан: от 50 до 3000; Стержень: от 50 до 100.
Объем ёмкости с полимерным раствором, мл	2,5/5,0/10,0

В таблице 2.2 отображены общие параметры установки и требования для её эксплуатации.

Таблица 2.2 – Общая спецификация установки NANON-01A

Габаритные размеры установки, мм	Длина: 830; Ширина: 630; Высота: 880.
Габаритные размеры камеры, мм	Длина: 550; Ширина: 400; Высота: 580.
Вес, кг	140 или меньше
Потребляемая мощность, кВт	1 или меньше
Номинальное напряжение	от 85 до 125 Вт при 50 Гц; от 170 до 250 Вт при 60 Гц.
Температура, при которой можно эксплуатировать установку, °С	от 20 до 30
Влажность воздуха, при которой можно эксплуатировать установку, %	от 30 до 70

Изготовление ВДФ-ТеФЭ мембран проводили в следующем порядке:

1. Полимерные ВДФ-ТеФЭ гранулы растворяли в ацетоне с концентрацией 5 мас. %.
2. Полученный прядильный раствор загружали в шприц, который помещали в штатное место NANON-01A.
3. Внутри установки размещали цилиндрический коллектор диаметром 100 мм и длиной 200 мм.
4. Для электроформования ВДФ-ТеФЭ мембран были подобраны следующие технологические режимы: напряжение 20 кВ; скорость расхода раствора 6 мл/ч;

расстояние между коллектором и иглой 150 мм; тип иглы 22 G; скорость вращения цилиндрического коллектора 200 об/мин; ширина движения иглы вдоль коллектора 200 мм; скорость движения иглы вдоль коллектора 10 мм/мин.

Изготовления ПЛГА скаффолдов проводили в следующем порядке:

1. Полимерные ПЛГА гранулы растворяли в гексафторизопропаноле с концентрацией 4 мас. %.

2. Полученный ПЛГА раствор загружали в шприц, который помещали в штатное место NANON-01A.

3. Внутри установки размещали цилиндрический коллектор диаметром 100 мм и длиной 200 мм.

4. Для электроформования ПЛГА скаффолдов, были подобраны следующие технологические режимы: напряжение 22 кВ; скорость расхода раствора 4 мл/ч; расстояние между коллектором и иглой 150 мм; тип иглы 20 G; скорость вращения цилиндрического коллектора 200 об/мин; ширина движения иглы вдоль коллектора 200 мм; скорость движения иглы вдоль коллектора 10 мм/мин.

2.2.2. Установка магнетронного распыления Катод-1М

Нанесение меди на поверхность мембран ВДФ-ТФЭ методом магнетронного распыления проводили на установке Катод-1М (Россия), модернизированной в лаборатории плазменных гибридных систем Томского политехнического университета. На рисунке 2.2 представлено изображение этой установки.

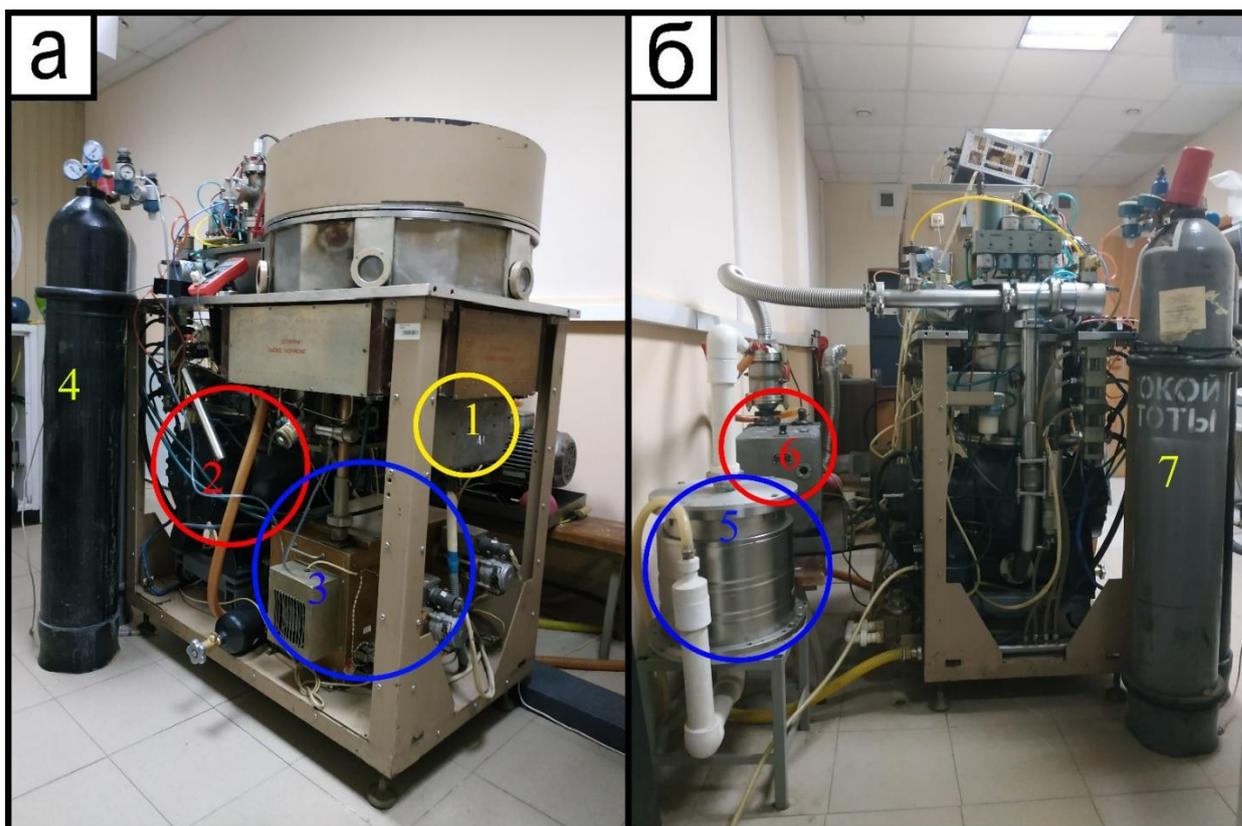


Рисунок 2.2 – Изображения модернизированной установки Катод-1М вид спереди
(а) вид сбоку (б)

Вакуумная камера установки смонтирована на металлическом каркасе (Рисунок 2.2а), внутри которого расположен блок высоковольтных коммутаторов (1), турбомолекулярный насос (2) и блок ВЧ согласования (3). Вне каркаса находятся: баллон с азотом (4) (Рисунок 2.2а), масляная ловушка форвакуумного насоса (5), форвакуумный насос (6) и баллон с аргонem (7) (Рисунок 2.2б). Вакуумная камера представляет собой бочку, на боковых стенках которой располагаются четыре оптических окна. Доступ к камере осуществляется через крышку, которая расположена сверху. Внутри камеры располагаются магнетроны с различными по составу мишенями, каждый магнетрон отгорожен от других перегородками.

На рисунке 2.3 представлена принципиальная схема вакуумной линии установки Катод-1М.

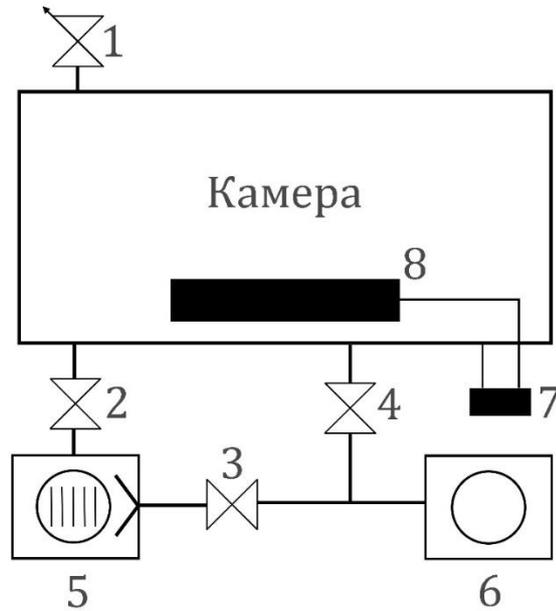


Рисунок 2.3 – Вакуумная схема установки Катод-1М. 1 – натекатель; 2 – затвор; 3 – клапан А; 4 – клапан Б; 5 – турбомолекулярный насос; 6 – форвакуумный насос; 7 – источник питания магнетрона; 8 – магнетрон

В таблице 2.3 отображены технологические параметры установки на базе Катод-1М.

Таблица 2.3 – Основные параметры установки Катод-1М

Параметр	Значение
Электропитание от сети, В	380
Максимальная потребляемая мощность, кВт	20
Напряжение на выходе высоковольтного выпрямителя, кВ	$1 \pm 0,3$
Максимальный ток тлеющего разряда, А	$3 \pm 0,3$
Габаритные размеры, мм	$2000 \times 1700 \times 700$
Масса, кг	500

Модифицирование ВДФ-ТеФЭ мембран проводили при следующих режимах установки Катод-1М: мощность – 40 Вт; плотность мощности – $0,2 \text{ Вт/см}^2$; ток – 0,2 А; напряжение – 220 В; предварительное давление в камере – $3 \times 10^{-2} \text{ Па}$; рабочее давление в камере – 0,7 Па; рабочий газ – аргон (Ar, чистота 99,99 %); расстояние между мишенью и подложкой – 40 мм; площадь медной (Cu, чистота 99,99 %) мишени – 224 см^2 ; длительность модифицирования 15, 30, 60, 120 секунд.

Средняя скорость осаждения тонких медных плёнок при выбранных режимах составляет $\sim 23 \pm 5 \text{ нм/мин}$. Скорость осаждения определяли путем измерения

методом эллипсометрии толщины медных плёнок, напылённых на поверхность плоских кремниевых подложек. При модифицировании в течение 15, 30, 60 и 120 секунд, толщина плёнок на плоских подложках составляла ~ 6; 12; 23 и 46 нм, соответственно.

2.2.3. Вакуумная ионно-плазменная установка

Модифицирование ПЛГА скаффолдов методами магнетронного распыления титана и одновременного распыления медной и титановой мишеней проходило на вакуумной ионно-плазменной установке [129], разработанной в научно-образовательном центре Б.П. Вейнберга Томского политехнического университета. Работы на этой установке проводились совместно с кандидатом технических наук Сиделёвым Дмитрием Владимировичем. Для питания магнетронов использовали независимые источники питания АРЕL-М-5PDC (Прикладная электроника, Томск, Россия). На рисунке 2.4 представлены изображения вакуумной камеры ионно-плазменной установки и трёх магнетронов, закреплённых на двери камеры.

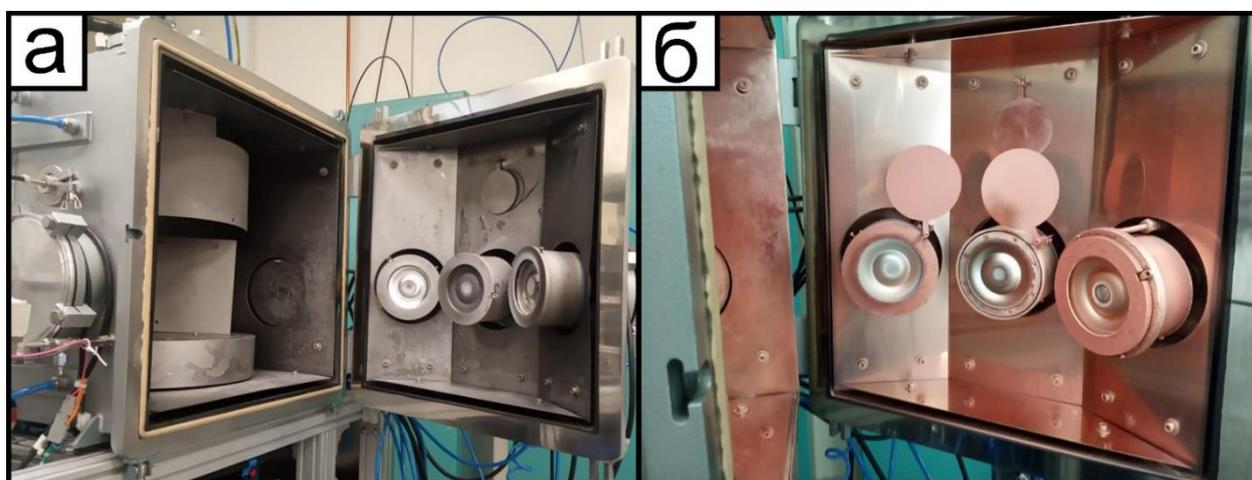


Рисунок 2.4 – Фотографии вакуумной камеры и магнетронов ионно-плазменной установки после распыления: (а) титановой мишени, (б) одновременного распыления титановой и медной мишеней

Ионно-плазменная установка оснащена тремя магнетронами цилиндрической формы со съёмными мишенями (Рисунок 2.4), планетарным

подложкодержателем, рассчитанным на восемь образцов и ионным источником с замкнутым дрейфом электронов.

Модифицирование ПЛГА скаффолдов проводили магнетронным распылением титана (Ti , чистота 99,95 %) и одновременным распылением меди (Cu , чистота 99,95 %) и титана (Ti , чистота 99,95 %). Питание магнетронов с металлическими мишенями осуществляли от источников питания APHEL-M-5PDC, работающих в униполярном режиме с частотой 100 кГц и рабочим циклом 70%. Предварительное давление в камере составляло 10^{-2} Па. В процессе модифицирования в качестве рабочего газа использовали аргон (Ar , чистота 99,99 %), рабочее давление в камере составляло 0,3 Па, мишени из меди и титана представляли собой диски диаметром 90 мм и толщиной 8 мм (площадь лицевой поверхности мишеней ~ 64 см²). В камере ионно-плазменной установки полимерные образцы вращались вокруг оси с радиусом вращения 150 мм. Скорость вращения образцов составляла ~ 3 об/мин.

Параметры модифицирования на ионно-плазменной установке подбирались на основе следующих требований:

1) Толщина плёнок титана и меди-титана (в ат. %) на плоских подложках должна быть одинакова и составлять ~ 200 нм. Такое значение было выбрано на основании литературных данных: в работе [130] титановые тонкие плёнки толщиной 200 нм показывали свою эффективность при интеграции с костной тканью и в исследовании биосовместимости с фибробластами линии L-929 [131]. Медно-титановые тонкие плёнки толщиной ~ 200 нм обладают низкой цитотоксичностью, но вместе с тем, высокой биосовместимостью [132].

2) На поверхности нетканых ПЛГА материалов тонкие плёнки должны содержать следующие соотношения меди к титану: 0,33; 1; 1,5 (в ат. %). Такие соотношения были определены на основании исследования [133], в котором плёнки с соотношениями меди к титану 0,15; 0,43; 0,76; 1,1; 1,6 показали высокие антибактериальные свойства по отношению как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям.

3) В процессе модифицирования должна сохраняться морфология нетканых ПЛГА скаффолдов (без проплавлений и прожогов).

Для определения параметров плазменного модифицирования ПЛГА скаффолдов, удовлетворяющих вышеперечисленным требованиям, была, в первую очередь, определена скорость осаждения плёнок при напылении меди и титана по отдельности. С этой целью экспериментально определяли толщину плёнок при длительности напыления 6,4 минуты: для меди при мощности на магнетроне 300 Вт, для титана – 750 Вт. Толщину измеряли с помощью прибора Микрон-5 (Изовак, Минск, Беларусь), оснащённого кварцевым датчиком, на который осаждали плёнки. Измеренные толщины плёнок представлены в таблице 2.4.

Расчёт параметров модифицирования проводился в следующем порядке: формулы 2.1 – 2.8.

Среднюю скорость осаждения на единицу мощности (V_{cp}) рассчитывали по формуле:

$$V_{cp} = v / P, \quad (2.1)$$

где v – средняя скорость осаждения медных и титановых плёнок при мощностях, указанных в таблице 2.4; P – мощность разряда.

Количество атомов меди или титана, падающих на подложку площадью 1 см^2 на единицу мощности за 1 минуту ($N_{P=1}$) рассчитывали по формуле:

$$N_{P=1} = \rho N_a V_{cp} / M, \quad (2.2)$$

где ρ – плотность металла в $[\text{г}/\text{см}^3]$ (для меди – $8,9 \text{ г}/\text{см}^3$, для титана – $4,507 \text{ г}/\text{см}^3$); N_a – число Авогадро ($6,02 \times 10^{23} \text{ моль}^{-1}$); M – молярная масса металла в $[\text{г}/\text{моль}]$ (для меди – $63,546 \text{ г}/\text{моль}$, для титана – $47,861 \text{ г}/\text{моль}$).

Результаты вычислений V_{cp} , $N_{P=1}$ приведены в таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Скорости осаждения медных и титановых плёнок, рассчитанные путём измерения их толщины на кварцевом датчике прибора Микрон-5

Мишень	P , Вт	t , мин	h , нм	v , нм/мин	V_{cp} , нм/мин	$N_{P=1}$, ат $\times 10^{13}/$ мин
Cu	300	6,4	$40,8 \pm 3,2$	6,4	21,3	18,0
Ti	750	6,4	$39,3 \pm 3,3$	6,1	8,2	4,6

Примечание к таблице: P – мощность, подаваемая на магнетроны с медной (Cu) или титановой (Ti) мишенями; t – длительность нанесения только медных и только титановых тонких плёнок на поверхность датчика прибора Микрон-5; h – толщина, только медных и только титановых плёнок, рассчитанных с помощью датчика прибора Микрон-5; v – средняя скорость осаждения плёнок; V_{cp} – средняя скорость осаждения на единицу мощности (рассчитывалась по формуле 2.1); $N_{P=1}$ – Количество атомов меди или титана, падающих на подложку площадью 1 см² на единицу мощности за 1 минуту (рассчитывалось по формуле 2.2).

Было экспериментально определено, что при мощностях ($P_{Cu} = 300$ Вт, $P_{Ti} = 750$ Вт) и длительности модифицирования 6,4 минуты морфология ПЛГА скаффолдов сохранялась.

Количество атомов титана в плёнках (N_{Ti}) рассчитывали по формуле:

$$N_{Ti} = \frac{N_a h_{общ}}{r_{Cu/Ti} M_{Cu} / \rho_{Cu} + M_{Ti} / \rho_{Ti}}, \quad (2.3)$$

где N_a – число Авогадро ($6,02 \times 10^{23}$ моль⁻¹); $h_{общ}$ – требуемая толщина для титановых и медно-титановых тонких плёнок (200 нм); $r_{Cu/Ti}$ – соотношение меди к титану в плёнках (0; 0,33; 1; 1,5); ρ_{Cu} – плотность меди (8,9 г/см³); ρ_{Ti} – плотность титана (4,507 г/см³); M_{Cu} – молярная масса меди (63,546 г/моль); M_{Ti} – молярная масса титана (47,861 г/моль).

Количество атомов меди (N_{Cu}) оценивали с помощью уравнения:

$$N_{Cu} = \frac{N_a h_{общ}}{M_{Cu} / \rho_{Cu} + M_{Ti} / r_{Cu/Ti} \rho_{Ti}}, \quad (2.4)$$

Толщину медной плёнки рассчитывали по формуле:

$$h_{Cu} = \frac{N_{Cu} M_{Cu}}{N_a \rho_{Cu}}, \quad (2.5)$$

Толщину титановой плёнки – по формуле:

$$h_{Ti} = \frac{N_{Ti} M_{Ti}}{N_a \rho_{Ti}}, \quad (2.6)$$

Для того, чтобы рассчитать длительность плазменного модифицирования ПЛГА скаффолдов использовали следующую формулу:

$$t = \frac{N_{Ti}}{N_{P=1} P_{Ti}}, \quad (2.7)$$

где P_{Ti} – мощность, подаваемая на магнетрон с титановой мишенью, при которой сохранялась морфология скаффолдов.

Мощность на титановой мишени в 750 Вт была взята при нанесении на поверхность скаффолдов только титана, а также при нанесении меди и титана с соотношением Cu/Ti – 0,33. При нанесении меди и титана с соотношениями Cu/Ti 1 и 1,5 на титановой мишени была выбрана мощность в 500 Вт. Эта мощность была использована, поскольку при 750 Вт ПЛГА образцы не сохраняли свою морфологию (наблюдались прожоги).

На основе рассчитанной длительности модифицирования (t) и количества атомов меди, падающих на подложку на единицу мощности ($N_{P=1}$), была определена мощность разряда на магнетроне с медной мишенью (P_{Cu}):

$$P_{Cu} = \frac{N_{Cu}}{tN_{P=1}}, \quad (2.8)$$

Результаты расчётов представлены в таблице 2.5.

Таблица 2.5 – Результаты расчёта технологических параметров нанесения тонких плёнок из титана и меди-титана методами магнетронного и одновременного магнетронного распыления

$r_{Cu/Ti}$	$h_{общ}$, нм	N_{Cu} , ат. $\times 10^{17}$	N_{Ti} , ат. $\times 10^{17}$	h_{Cu} , нм	h_{Ti} , нм	P_{Cu} , Вт	P_{Ti} , Вт	t , мин
0	200	0	11,3	0	200	0	750	32,6
0,333	200	3,1	9,3	36	164	65	750	26,6
1	200	6,8	6,8	80	120	130	500	29,3
1,5	200	8,5	5,7	100	100	195	500	24,4

Примечание к таблице: $r_{Cu/Ti}$ – соотношение меди к титану в плёнках; $h_{общ}$ – общая толщина плёнки; N_{Cu} – количество атомов меди (рассчитывалось по формуле 2.3); N_{Ti} – количество атомов титана (рассчитывалось по формуле 2.4); h_{Cu} – толщина плёнки, при условии работы магнетрона только с медной мишенью (рассчитывалась по формуле 2.5); h_{Ti} – толщина плёнки, при условии работы магнетрона только с титановой мишенью (рассчитывалась по формуле 2.6); P_{Cu} – мощность разряда, при условии работы магнетрона только с медной мишенью (рассчитывалась по формуле 2.8); P_{Ti} – мощность разряда, при условии работы магнетрона только с титановой мишенью; t – длительность модифицирования (рассчитывалась по формуле 2.7).

В результате, основываясь на всех вышеперечисленных расчётах, были определены параметры модифицирования ПЛГА скаффолдов, приведённые в таблице 2.6, которые удовлетворяют требованиям: толщина плёнок на плоских

подложках должна быть одинаковой ~ 200 нм; соотношение меди к титану в плёнках должно составлять 0,33, 1 и 1,5; режимы должны сохранять морфологию нетканых ПЛГА скаффолдов. Далее по тексту немодифицированные ПЛГА скаффолды обозначаются буквой «н», модифицированные титаном и медью ПЛГА скаффолды обозначаются как: «Ti», «0,33Cu-Ti», «1Cu-Ti» и «1,5Cu-Ti» (таблица 2.6).

Таблица 2.6 – Параметры модифицирования ПЛГА скаффолдов методами магнетронного распыления Ti и одновременного магнетронного распыления Cu-Ti

Образец (режим модифициро вания)	Мощность разряда, Вт		Плотность мощности, Вт/см ²		Напряжение, В		Ток, А		Длительность модифициро вания, мин
	Cu	Ti	Cu	Ti	Cu	Ti	Cu	Ti	
Ti	-	750	-	12	-	750	-	1,5	32,6
0,33Cu-Ti	65	750	1	12	430	750	0,15	1,5	26,6
1Cu-Ti	130	500	2	8	430	450	0,30	1,1	29,3
1,5Cu-Ti	195	500	3	8	430	450	0,45	1,1	24,4

С целью сохранения морфологии скаффолдов, исключения значительного их нагрева в процессе магнетронного распыления использовался периодический режим модифицирования: напыление в течение половины длительности модифицирования – 20 минут технологический перерыв без напыления – напыление в течение половины длительности модифицирования.

Скорости осаждения плёнок для различных режимов составляли: «Ti» $\sim 6,1$ нм/мин, «0,33Cu-Ti» $\sim 7,5$ нм/мин, «1Cu-Ti» $\sim 6,8$ нм/мин, «1,5Cu-Ti» $\sim 8,2$ нм/мин. Низкие скорости осаждения были необходимы для сохранения исходной морфологии ПЛГА скаффолдов. При более высоких мощностях и соответственно скоростях осаждения поверхность нетканых ПЛГА скаффолдов подвергалась температурному воздействию, и на них возникали прожоги и проплавления [134].

2.3. Методы исследования структурно-морфологических и физико-химических свойств

2.3.1. Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) – это метод исследования топографии различных материалов и веществ, основанный на сканировании поверхности с помощью электронного пучка.

На рисунке 2.5 приведена принципиальная схема сканирующего электронного микроскопа.

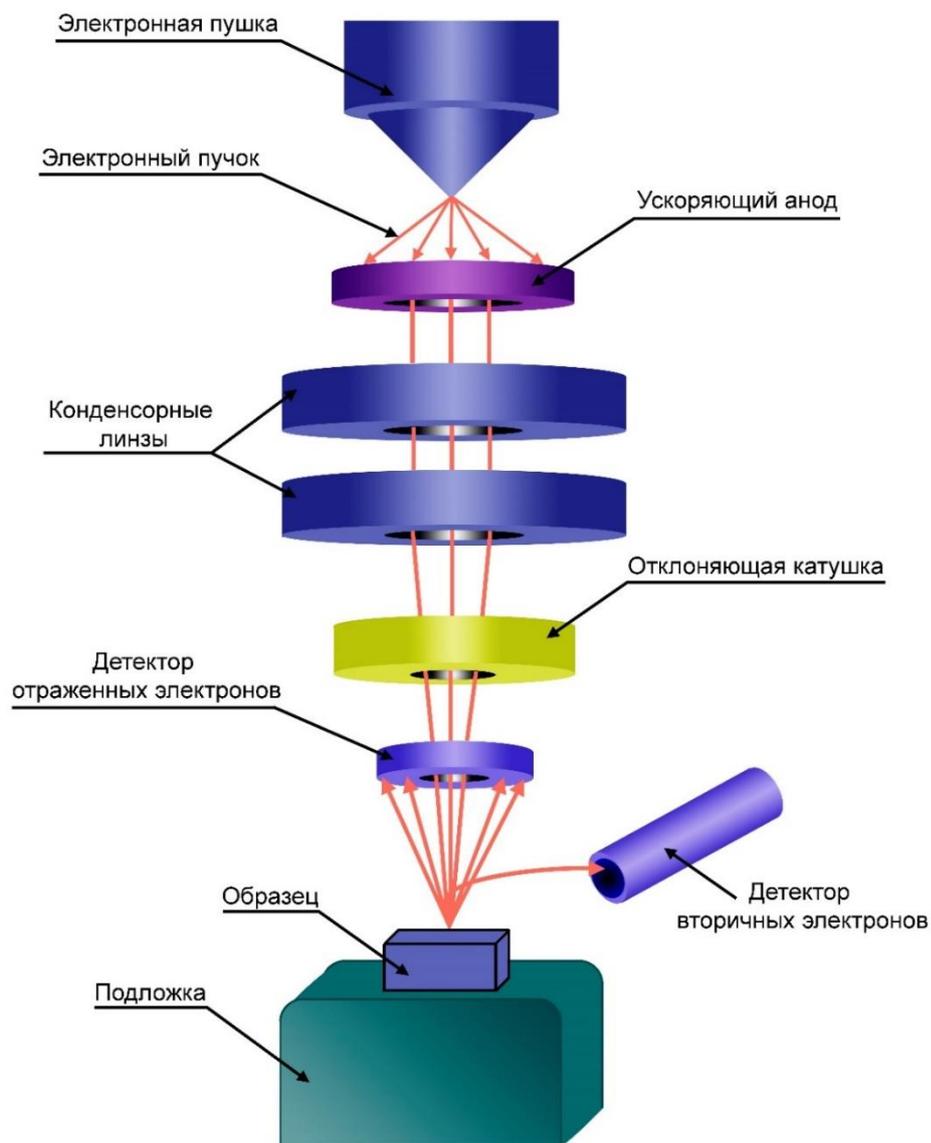


Рисунок 2.5 – Принципиальная схема сканирующего электронного микроскопа

Электронная пушка формирует электронный пучок, который направляется в сторону ускоряющего анода. Проходя через анод, электронный пучок ускоряется до энергий в диапазоне от 0,2 до 30 кэВ [135]. Пучок проходит через одну или несколько конденсаторных линз, с помощью которых он фокусируется и его диаметр уменьшается от нескольких микрон до нескольких нанометров. Далее сфокусированный пучок с помощью отклоняющей катушки направляется в исследуемую область образца. При взаимодействии пучка с поверхностью образца происходит выход рентгеновского излучения, рассеяние налетающих электронов и возникают явления катодolumинесценции и вторичной электронной эмиссии.

Детектирование обратноотражённых и вторичных электронов позволяет визуализировать топографию поверхности исследуемого образца. Разрешающая способность сканирующих электронных микроскопов может составлять нескольких нанометров и даже долей нанометров.

Для получения требуемого масштаба съёмки и разрешения, оператор изменяет ускоряющее напряжение, диаметр пучка от 0,5 нм до 1 мкм, ток пучка от 1 пА до 1 мкА, угол конвергенции от 0,001 до 0,05 рад и давление в камере (режим низкого вакуума: 5 – 2000 Па; режим высокого вакуума: 10^{-2} – 10^{-3} Па; режим сверхвысокого вакуума: 10^{-6} – 10^{-7} Па) [136]. Качество съёмки также зависит от природы образца, особенно от его электропроводности.

Микрофотографии поверхности исследуемых образцов получают путём сканирования поверхности пучком электронов. Изображение сканируемой поверхности формируется за счёт собранной информации, полученной от обратно рассеянных и от вторичных электронов.

Для увеличения электропроводности полимерных скаффолдов на их поверхность наносились тонкие плёнки золота с помощью установки SmartCoater (Jeol, Акисима, Япония).

На рисунке 2.6 показан внешний вид сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D.



Рисунок 2.6 – Изображение сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D

СЭМ исследования модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран проводили с использованием микроскопа Quanta 200 3D (Field Electron and Ion Company, Хилсборо, Орегон, США). С помощью микроскопа были получены микрофотографии поверхности мембран при увеличениях $\times 1000$ и $\times 60000$ и ускоряющих напряжениях 15 кВ и 30 кВ, соответственно. Поперечные срезы ВДФ-ТеФЭ мембран исследовали при увеличении $\times 250$ и ускоряющем напряжении 15 кВ.

СЭМ исследования модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов выполняли на микроскопе JSM-6000 Plus (Jeol, Акисима, Япония) при увеличении $\times 1000$ и при ускоряющем напряжении 15 кВ.

СЭМ исследования модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов проводили с использованием микроскопа JSM-6000 Plus при увеличении $\times 500$ и при ускоряющем напряжении 20 кВ. Морфология отдельных волокон ПЛГА скаффолдов была исследована с использованием микроскопа LEO EVO 50 (Carl Zeiss, Оберкохен, Германия) при увеличении $\times 15000$ и при ускоряющем напряжении 20 кВ. Поперечные срезы ПЛГА скаффолдов, модифицированных медью и титаном, изучали на микроскопе LEO EVO 50 при увеличении $\times 2500$ и при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Гистограммы распределения диаметров волокон и площадей пор мембран и скаффолдов были получены с использованием СЭМ изображений их поверхностей при увеличениях $\times 500$ и $\times 1000$ и плагина DiameterJ v1.018 (Национальные институты здоровья, Бетесда, Мэриленд, США), включённого в программу Fiji/ImageJ (Национальные институты здоровья, Бетесда, Мэриленд, США).

2.3.2. Атомно-силовая микроскопия

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – это метод исследования морфологии материалов, основанный на прямом контакте механического зонда микроскопа с поверхностью.

На рисунке 2.7 представлена принципиальная схема атомно-силового микроскопа.

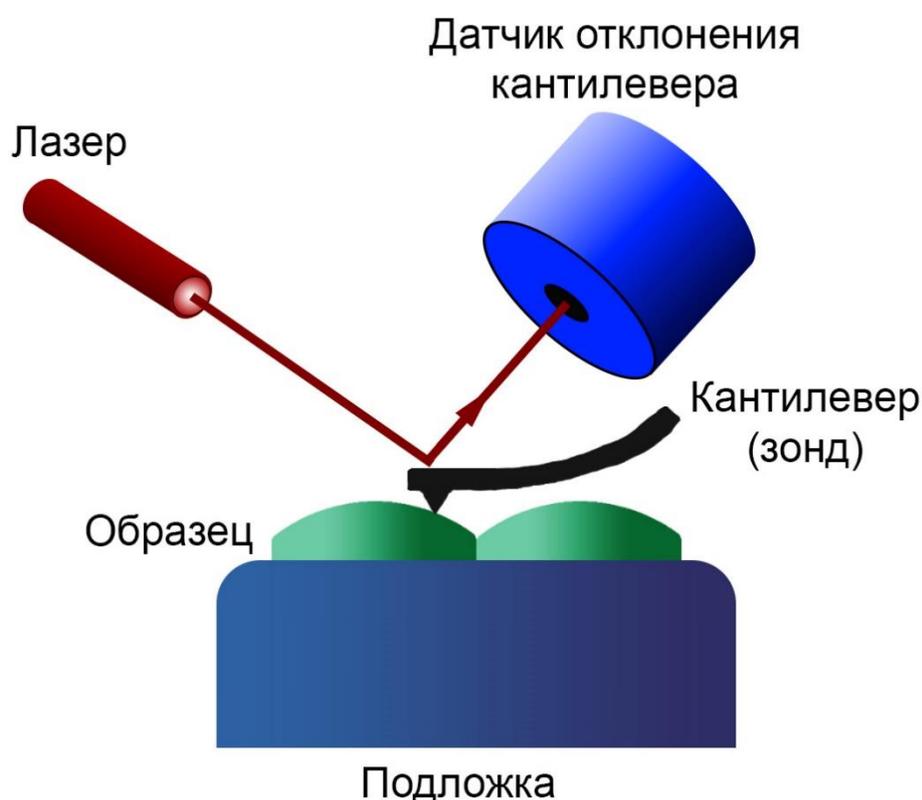


Рисунок 2.7 – Принципиальная схема атомно-силового микроскопа

При АСМ сканирование поверхности выполняется путём перемещения кантилевера (зонда) вдоль поверхности образца. Амплитуда колебаний кантилевера во время его прохода по поверхности регистрируется лазером и

датчиком отклонения кантилевера. Лазер направлен на кантилевер таким образом, чтобы регистрировать его амплитуду колебаний во время его прохода по поверхности образца. Отражённый от кантилевера лазерный луч направляется в сторону датчика отклонения кантилевера, который определяет рельеф и параметры шероховатости образца.

Атомно-силовой микроскоп может работать в трех режимах: контактном, полуконтактном и бесконтактном [137]. Это обусловлено электростатическим взаимодействием между атомами кантилевера и атомами исследуемого образца. Когда межатомное расстояние достаточно велико, между кантилевером и образцом возникают слабые силы притяжения, в этом случае говорят о бесконтактном режиме. По мере постепенного приближения атомов друг к другу электростатические силы притяжения значительно возрастают, и микроскоп начинает работать в полуконтактном режиме. Контактный режим возникает, когда атомы сближаются настолько близко, что их электронные оболочки начинают отталкиваться друг от друга.

Преимуществом атомно-силового микроскопа является возможность создавать трёхмерный профиль поверхности, в то время как при СЭМ получаются фотографии двумерной поверхности. Диэлектрические образцы для АСМ не требуют предварительной подготовки, например, нанесение проводящих покрытий. Атомно-силовой микроскоп может работать на воздухе, в то время как метод сканирующей электронной микроскопии требует качественного вакуума [138]. Недостатком АСМ по сравнению с СЭМ является низкая скорость сканирования, что значительно увеличивает длительность исследования поверхности образца.

Морфология поверхности и шероховатость немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов была оценена методом атомно-силовой микроскопии с использованием атомно-силового микроскопа (NTEGRA NT-MDT AFM system, NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия) в полуконтактном режиме. Образцы сканировались с помощью кремниевого кантилевера NSG01 (NTEGRA NT-MDT AFM system, NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия) с

типичным значением силовой константы 5,1 Н/м (гарантированный диапазон 1,45 – 15,10 Н/м). Исследование морфологии модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов проходило при площади сканирования 40×40 мкм². Анализ модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов проводили при площадях сканирования 40×40 мкм² и 1×1 мкм².

2.3.3. Гравиметрический метод анализа пористости

Гравиметрический метод позволяет измерять пористость на основании значений плотностей пористых и не пористых материалов одинакового состава. Для расчёта плотности пористого полимерного скаффолда необходимо определить его массу и объем, определяемые с использованием весов и линейки, соответственно. Плотность не пористого полимера часто является табличным значением. Если табличные данные по плотности отсутствуют, то можно изготовить непористую полимерную плёнку методом литья растворителя и использовать её плотность для расчётов.

К преимуществам гравиметрического метода можно отнести то, что он не разрушающий. После измерения пористости образцы могут быть применены повторно. Метод также чрезвычайно прост и не требует специализированного оборудования.

К недостаткам можно отнести его низкую точность, поскольку все измерения проводятся с помощью простейших инструментов (линейка, весы). Точность можно повысить при увеличении линейных размеров образца, поскольку при его увеличении разброс измерения его веса и габаритных размеров уменьшается.

Показатели пористости ПЛГА скаффолдов (Π) были определены гравиметрическим методом с использованием формулы [139]:

$$\Pi = 1 - \rho_{\text{скаффолд}} / \rho_{\text{полимер}} \quad (2.9)$$

где $\rho_{\text{скаффолд}}$ – плотность пористого полимерного скаффолда в г/см³; $\rho_{\text{полимер}}$ – плотность не пористого полимера (для гранул ПЛГА: $\rho_{\text{полимер}} = 1,25$ г/см³ [140]).

2.3.4. Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия

Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (ЭДРС) применяется для исследования элементного состава различных материалов и основана на воздействии на образец электронным пучком или рентгеновским излучением.

При облучении образца происходит выход характеристического рентгеновского излучения, обусловленное выбиванием электронов из внутренних оболочек атома и их замещением электронами верхних уровней. Такое излучение находится в рентгеновском диапазоне длин волн и характерно для каждого элемента, поскольку каждый элемент обладает собственным набором энергетических уровней. Анализ детектируемого излучения по энергиям даёт понимание о количественном и качественном составе исследуемого материала.

Основными узлами ЭДРС прибора являются: источник электронов (или рентгеновского излучения), детектор рентгеновского излучения. Источник электронов используют в сканирующем электронном микроскопе, что позволяет параллельно использовать два метода исследования СЭМ и ЭДРС. Совмещение двух методов в одной установке позволяет определять элементный состав в области, с которой снимается топография поверхности. Для анализа элементного состава образцов в конструкцию сканирующего электронного микроскопа встраивают детектор рентгеновского излучения.

Относительную концентрацию элементов на поверхности модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран оценивали методом ЭДРС с помощью микроскопа Quanta 200 3D (Field Electron and Ion Company, Хилсборо, Орегон, США), оснащённого ЭДРС детектором Genesis 4000 (Field Electron and Ion Company, Хилсборо, Орегон, США) при увеличении $\times 1000$ и ускоряющем напряжении 15 кВ. Оценку интенсивности сигналов меди на профиле поверхности модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран проводили при увеличении $\times 250$ и ускоряющем напряжении 15 кВ.

Элементный состав модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов оценивали с использованием ЭДРС анализатора микроскопа JSM-6000 Plus (Jeol,

Акисима, Япония). ЭДРС спектры скаффолдов снимали при увеличении $\times 500$ и ускоряющем напряжении 15 кВ.

Элементный состав поверхности модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов исследовали с помощью ЭДРС анализатора микроскопа LEO EVO 50 (Carl Zeiss, Оберкохен, Германия) при увеличении $\times 500$ и ускоряющем напряжении 20 кВ. С помощью этого прибора проводили и картирование поперечного сечения модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов при увеличении $\times 2500$ и ускоряющем напряжении 20 кВ. Картирование поверхности ПЛГА скаффолдов до и после их погружения в воду проводили при увеличении $\times 5000$ и ускоряющем напряжении 30 кВ с помощью микроскопа Quanta 200 3D (FEI Company, Хиллсборо, Орегон, США). Для картирования поверхности модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов их готовили в соответствии с процедурой, описанной в главе 2.3.11. Образцы размерами $0,5 \text{ см}^2$ помещали в пробирки, заполненные 1 мл деионизированной воды. Были подготовлены три группы образцов: первая не помещалась в деионизированную воду (исходная группа образцов, до взаимодействия), вторая извлекалась из пробирок через 14 дней, третья извлекалась из пробирок через 28 дней. После извлечения образцы высушивались в вакуумном шкафу при комнатной температуре и давлении 100 Па в течение 48 часов.

Для данных элементного состава, полученных с помощью ЭДРС, проводили ZAF коррекцию.

2.3.5. Рамановская спектроскопия

Рамановская спектроскопия – это метод, который используют для исследования колебаний молекулярных связей в материале. Метод основан на неупругом рассеянии света, вызывающем сдвиг в частоте рассеянных фотонов. Этот сдвиг может использоваться для определения типа и количества молекул, присутствующих в образце, и даёт информацию о молекулярной структуре и химическом составе образца.

Преимущества рамановской спектроскопии: метод не разрушающий, универсальный (применяется к широкому спектру материалов, включая жидкости, газы и твёрдые тела), высокочувствительный (позволяет обнаруживать следовое количество определенных молекул).

К недостаткам рамановской спектроскопии относят необходимость борьбы с фоновым шумом, так как метод очень чувствителен к различным помехам, что может приводить к не объективным данным об исследуемых образцах. Также к недостаткам можно отнести высокую стоимость оборудования.

Рамановские спектры модифицированных ПЛГА скаффолдов получали при увеличении $\times 100$ с помощью системы NTGERA NT-MDT (NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия), оснащённой зелёным лазером с длиной волны 532 нм.

2.3.6. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС) – полуколичественный метод определения элементного и химического состава приповерхностных слоёв материала.

На рисунке 2.8 отображена принципиальная схема рентгеновского фотоэлектронного спектрометра.

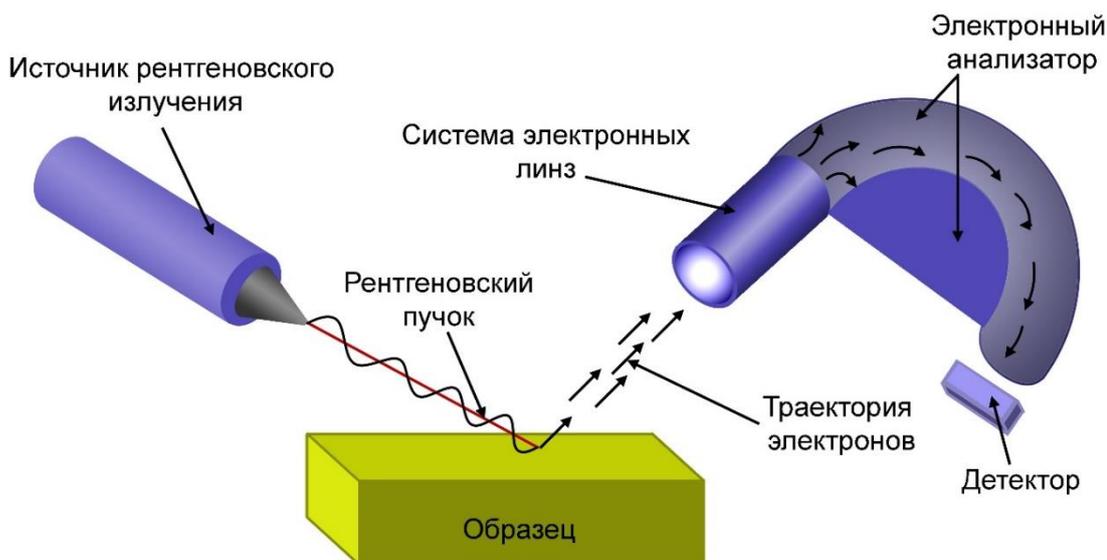


Рисунок 2.8 – Принципиальная схема рентгеновского фотоэлектронного спектрометра

Из источника Al K α или Mg K α излучения выходит рентгеновский пучок. При воздействии пучка на образец возникает фотоэффект, который заключается в выходе электронов из исследуемого материала. Фотоэлектроны имеют характерные кинетические энергии, позволяющие определять химические связи и элементный состав исследуемого вещества. С этой целью электроны направляются в систему магнитных линз, в которой они фокусируются. Далее электроны попадают в полусферический электронный анализатор и сортируются по энергиям с помощью электростатического поля. Детектор регистрирует количество излучаемых электронов и их кинетическую энергию, по значениям которых можно определить концентрации элементов и их химические связи. Так как кинетическая энергия фотоэлектронов незначительная, до детектора долетают только электроны, которые были выбиты из приповерхностных слоёв на глубине от 1 до 5 нм.

Внешний вид спектрометра Escalab 250Xi (Thermo Fisher Scientific Inc., Уолтем, Массачусетс, США) показан на рисунке 2.9.



Рисунок 2.9 – Изображение рентгеновского фотоэлектронного спектрометра Escalab 250Xi

РФЭС исследования модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран проводили с использованием фотоэлектронного спектрометра Escalab 250Xi, оснащённого источником монохроматического Al K α излучения с энергией фотонов 1486,6 эВ. Размер пятна рентгеновского пучка составлял 650 мкм. Полное энергетическое разрешение прибора составляло 0,8 эВ и 0,6 эВ при энергиях пропускания 50 эВ и 20 эВ, соответственно. Для травления образцов была использована ионная пушка с энергией ионов аргона 500 эВ, плотностью тока 0,01 мкА/мм² и длительностью травления 30 с. Спектры были сняты до и после травления в условиях сверхвысокого вакуума при давлении 8×10^{-8} Па.

РФЭС анализ модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов проводили на спектрометре Escalab 250Xi (Thermo Fisher Scientific Inc., Уолтем, Массачусетс, США), оснащённом источником монохроматического Al K α излучения с энергией фотонов 1486,6 эВ. Энергии пропускания 100 эВ и 50 эВ были использованы для построения обзорных и валентных спектров, соответственно. Размер пятна рентгеновского пучка составлял 650 мкм. Спектры были сняты в условиях сверхвысокого вакуума.

РФЭС анализ модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов проводили с использованием системы анализа поверхности Nexsa XPS (Thermo Fisher Scientific inc., Уолтем, Массачусетс, США), оснащённого источником монохроматического Al K α излучения и энергией фотонов 1486,6 эВ. Для построения обзорных спектров и спектров валентной зоны применялись энергии пропускания 200 эВ и 50 эВ, соответственно. Размер пятна рентгеновского пучка составлял 400 мкм. Спектры были сняты в условиях сверхвысокого вакуума.

Анализ относительной концентрации элементов и деконволюцию всех полученных РФЭС спектров проводили с использованием программного обеспечения CasaXPS (Thermo Fisher Scientific Inc., Уолтем, Массачусетс, США). Относительная концентрация элементов рассчитывалась на основе площадей пиков отдельных элементов, полученных после вычитания фона Ширли, которые затем были поделены на соответствующие коэффициенты относительной чувствительности. Деконволюция спектров была выполнена при удалении фона

Ширли, пики строились на базе функции Фойгта с суммой Гаусса 80 % и Лоренца 20 %.

2.3.7. Рентгеноструктурный анализ

Метод позволяет исследовать кристаллическую структуру, фазовый состав и ориентацию кристаллитов. Также с помощью метода можно определять средний размер зерна, кристаллические дефекты, степень кристалличности [141]. Метод основан на явлении дифракции рентгеновских лучей на кристаллических решётках твёрдых тел.

На рисунке 2.10 представлена принципиальная схема дифрактометра.

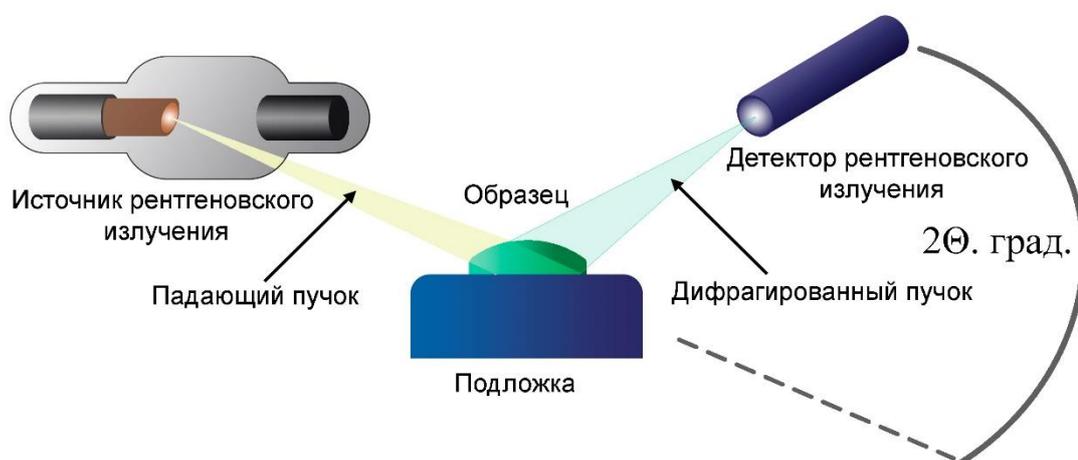


Рисунок 2.10 – Принципиальная схема дифрактометра

Дифрактометр состоит из следующих основных узлов: источник рентгеновского излучения (для генерирования излучения обычно используется рентгеновская трубка), держатель образца, детектор рентгеновского излучения.

Излучение, генерируемое в рентгеновской трубке, проходит через коллиматор и направляется в сторону исследуемого образца. В зависимости от угла, под которым находится образец, меняется интенсивность отражённого рентгеновского излучения. Когда угол скольжения доходит до значений, удовлетворяющих условию Вульфа-Брэгга, возникает дифракционная картина и проявляются отдельные высокоинтенсивные пики.

Изображение дифрактометра XRD 6000 представлено на рисунке 2.11.



Рисунок 2.11 – Внешний вид рентгеновского дифрактометра XRD 6000

Для исследования кристаллической структуры ВДФ-ТеФЭ мембран был использован дифрактометр XRD 6000 (Shimadzu, Киото, Япония) при следующих параметрах: монокроматическое $\text{Cu K}\alpha$ излучение с длиной волны $1,54 \text{ \AA}$; напряжение в рентгеновской трубке 40 кВ; ток рентгеновского пучка 40 мА; угол сканирования $10 \div 80^\circ$; скорость сканирования $2^\circ/\text{мин}$; шаг сканирования $0,02^\circ$.

2.3.8. Механические свойства

Механические свойства исследуемых образцов оценивались с помощью испытаний на растяжение, которые давали информацию о предельной прочности и максимальном удлинении образцов при их одноосном растяжении вплоть до разрыва.

Для исследования механических характеристик ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов использовали разрывную машину Instron 3343 (Illinois Tool Works, Гленвью, Иллинойс, США) со статическим тензодатчиком Instron 2519-102 (Illinois Tool Works, Гленвью, Иллинойс, США). На рисунке 2.12 представлено изображение этой испытательной машины.

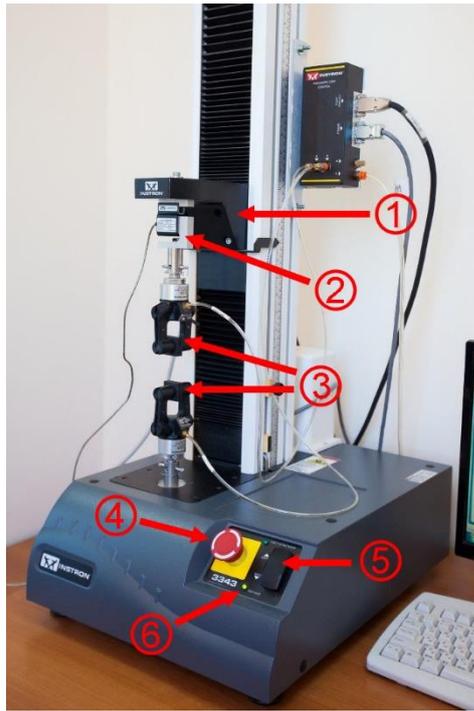


Рисунок 2.12 – Изображение испытательной машины Instron 3343: подвижная траверса (1), датчик нагрузки (2), зажимные кулачки установки, к которым крепится образец (3), аварийная кнопка остановки движения траверсы (4), тумблер управления расстоянием между зажимными кулачками (5), индикатор включения (6)

Машина позволяет строить кривые напряжения-деформации, определять предел прочности и максимальное удлинение при разрыве. У машины нижний кулачок статичен, верхний двигается вдоль вертикали. Калибровку кулачка проводят в соответствии с длиной образца. Затем в зажимные кулачки машины помещают образец прямоугольной формы.

Для оператора важно, чтобы положение образца в зажимных кулачках было под прямым углом без смещений. При неправильном закреплении образца он будет растягиваться с изгибающей силой. Неправильное закрепление не допускается особенно для хрупких материалов, поскольку это часто приводит к существенному искажению реальных результатов [142].

Для анализа механических свойств полимерных скаффолдов на машине Instron 3343 устанавливалась скорость движения траверсы 10 мм/мин. Размер

полимерных образцов (без зажимов) и их тестируемая площадь составляли $3 \times 1 \text{ см}^2$ и $1 \times 1 \text{ см}^2$, соответственно.

2.3.9. Смачиваемость

Смачиваемость твёрдого тела жидкостью характеризуется краевым углом смачивания (углом контакта). Краевой угол смачивания (θ) отображён на рисунке 2.13. Такой угол образуется между прямыми, которые проходят через границы раздела сред воздух/жидкость и твёрдое тело/жидкость. Вершина полученного угла лежит на границе раздела всех трёх сред. Анализ смачиваемости твёрдого тела сводится к определению значения полученного угла смачивания.

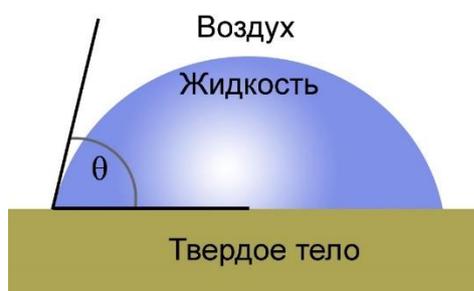


Рисунок 2.13 – Краевой угол смачивания (θ), возникающий при взаимодействии жидкости с твёрдым телом

Если угол контакта с водой составляет более 90° , это свидетельствует о гидрофобных свойствах и низких значениях свободной энергии поверхности тестируемого материала. Если угол контакта составляет менее 90° , это указывает на гидрофильные свойства и высокие значения свободной энергии поверхности.

Для оценки смачиваемости использовали метод «сидячей капли». При таком методе каплю жидкости наносят на поверхность образца, и с помощью камеры высокого разрешения снимают её профиль. Полученное изображение профиля капли используют для измерения краевого угла смачивания.

Преимуществами такого измерения угла контакта являются: относительная лёгкость осуществления метода; возможность нанесения нескольких капель на один образец, что позволяет учитывать его неоднородность. К недостаткам такого метода можно отнести субъективность полученных данных, поскольку определение краевого угла смачивания происходит по изображениям.

Оценка значений краевого угла смачивания модифицированных полимерных ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов проводили на системе анализа формы капли DSA 25 (KRÜSS, Гамбург, Германия). На рисунке 2.14 представлено изображение системы анализа формы капли DSA 25.



Рисунок 2.14 – Изображение системы анализа формы капли DSA 25: система дозированной подачи жидкости из шприца (1), видеокамера, фиксирующая профиль капли (2), регулируемый держатель для исследуемых образцов (3), шприц (4), регулируемое освещение, направленное в сторону камеры (5)

Анализ смачиваемости нетканых полимерных материалов проводился следующим образом: 1) три капли деионизированной воды и/или глицерина объёмом 2 мкл наносили на поверхность каждого полимерного образца; 2) краевые углы смачивания оценивали после взаимодействия жидкости с поверхностью в течение 2 секунд и/или 1 минуты.

2.3.10. Термогравиметрический анализ

Термогравиметрический анализ (ТГА) – это вид термического анализа, используемый для определения изменения веса материала в зависимости от температуры или времени в контролируемой атмосфере. Процесс включает в себя нагревание образца и измерение его веса во времени для определения его

термической стабильности. При повышении температуры исследуемый образец подвергается различным физическим и химическим процессам, таким как окисление, разложение и испарение.

К преимуществам термогравиметрического анализа (ТГА) можно отнести его универсальность и точность. С помощью ТГА можно исследовать различные виды материалов (полимеры, керамика, металлы). Посредством ТГА определяют термические характеристики материала.

К недостаткам ТГА можно отнести его продолжительность, так как требуется много времени для нагревания образца. Кроме того, ТГА требует поддержания контролируемой атмосферы на протяжении всего эксперимента.

ТГА анализ полимерных ПЛГА скаффолдов проводили на приборе SDT-Q600 (TA Instruments, Нью-Касл, Делавэр, США). Для этого от образцов отрезали кусочки площадью $1 \times 1 \text{ см}^2$ и помещали в термостойкие чашки. Далее чашки с образцами анализировали в приборе посредством их постепенного нагрева до температур от $20 \text{ }^\circ\text{C}$ до $800 \text{ }^\circ\text{C}$ при скорости нагрева $20 \text{ }^\circ\text{C}/\text{мин}$ в атмосфере воздуха.

2.3.11. Инверсионная вольтамперометрия

Инверсионная вольтамперометрия – это электроаналитический метод, который включает предварительное концентрирование аналита на электроде с последующей развёрткой потенциала для его селективного окисления или восстановления, при этом генерируемый ток пропорционален количеству аналита, присутствующего на электроде. Таким методом определяют концентрацию ионов металлов в растворе.

Модифицированные медью и титаном ПЛГА скаффолды площадью $0,5 \text{ см}^2$ загружали в пробирки, заполненные 1 мл деионизированной водой (Milli-Q[®], Merck Millipore, Берлингтон, Массачусетс, США) с проводимостью $1 \text{ мкСм}/\text{см}$. Затем пробирки помещали в инкубационный шкаф при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Через 30 минут, а далее через 1, 3, 7, 14 и 28 дней модифицированные ПЛГА образцы извлекали из пробирок с деионизированной водой. Затем пробирки исследовали с помощью двухэлектродной измерительной системы. Вольтамперограммы

записывали при линейной развёртке потенциала в дифференциальном режиме с помощью вольтамперометрической системы STA (ТУ № 4215-001-20694097-98, ИТМ, Томск, Россия). Скорость выхода ионов меди (CB) рассчитывали по следующей формуле [143]:

$$CB = \frac{C_{t+\Delta t} - C_t}{\Delta t}, \quad (2.10)$$

где C_t – концентрация ионов меди в деионизированной воде в момент времени « t » в [мг/л]; $C_{t+\Delta t}$ – концентрация ионов меди в момент времени « $t+\Delta t$ »; Δt – разница во времени взаимодействия образцов с водой, в соответствии с которой наблюдались две различные концентрации (C_t и $C_{t+\Delta t}$) в днях [д].

2.4. Исследования биологических свойств

2.4.1. Антибактериальная активность

Анализ антибактериальной активности модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран проводили в соответствии со стандартом ISO 20743:2013 [144] в лаборатории биополимеров и биотехнологии Томского государственного университета кандидатом биологических наук Немойкиной Анной Леонидовной. В качестве тестируемых бактерий использовали золотистый стафилококк ATCC 25923. Культуру бактерий объёмом 0,2 мл и концентрацией 10^5 КОЕ/мл вместе с питательным бульоном помещали на поверхность каждого образца размерами 2×2 см². После 24 часов контакта бактерий с поверхностью мембран их промывали в водном растворе хлорида натрия 0,9% объёмом 20 мл в течение 5 минут. Полученную в результате промывки жидкость распределяли по чашкам Петри, каждая из которых содержала 100 мл мясо-пептонного агара. Культивирование сред в чашках Петри проходило при 37 °С в течение 24 часов. Контрольные значения численности бактерий получали путём инкубирования среды в чашках Петри без ВДФ-ТеФЭ мембран в течение 24 часов.

Показатели антибактериальной активности (R) рассчитывали в соответствии с уравнением [145]:

$$R = 100 \cdot (C - A) / C \quad (2.11)$$

где A – количество бактерий в чашках Петри, выращенных после контакта культуры с поверхностями нетканых полимеров в течение 24 часов; C – контрольное количество бактерий, посчитанное после 24 часов инкубирования среды в чашках Петри без добавления ВДФ-ТеФЭ мембран.

Антибактериальная активность модифицированных титаном и медью ПЛГА скаффолдов исследовалась в Институте физики прочности и материаловедения СО РАН докторами технических наук Бакиной Ольгой Владимировной и Лернером Маратом Израильевичем согласно с ISO 20743:2013. Метициллин-резистентный золотистый стафилококк ААТСС 43300 (МРЗС, БиоВитрум, Новосибирск, Россия) использовали в качестве тестовых патогенных бактерий. В стерильные пробирки с ПЛГА скаффолдами площадью $1 \times 1 \text{ см}^2$ добавляли по 0,2 мл суспензии МРЗС с концентрацией 10^5 КОЕ/мл. Пробирки с исследуемыми образцами и суспензией инкубировали при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 6, 12 и 24 часов. После инкубирования в пробирки наливали по 2 мл изотонического раствора (NaCl , 0,85 %) и перемешивали на вортексе (Heidolph, Швабах, Германия). После перемешивания раствор в пробирках высевали в чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона (Научно-исследовательский центр фармакотерапии, Санкт-Петербург, Россия). Чашки Петри помещали в термошкаф при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ на 24 часа. После этого подсчитывали выросшие колонии в чашках. Контрольное количество бактерий было получено при инкубировании 0,2 мл суспензии МРЗС (концентрация 10^5 КОЕ/мл) в чашках Петри в течение 24 часов из пробирок без скаффолдов, взятых сразу после инокуляции (при времени контакта 0 часов). Показатели антибактериальной активности оценивали по формуле (2.11).

2.4.2. Анализ биосовместимости *in vitro*

Цитохимическое исследование модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов было проведено в Институте цитологии РАН доктором биологических наук Малашичевой Анной Борисовной. В качестве тестируемых клеток использовались фибробласты десны человека (Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия), выделенные от здоровых доноров. Фибробласты

полностью покрывали собой дно чашек Петри. Клетки трипсинизировали (использовали фермент трипсин, приобретённый у компании Merck, Дармштадт, Германия) для лёгкого открепления клеток от чашек Петри и затем получали суспензию из 10^5 клеток (подсчёт проходил в камере Neubauer). Затем на поверхность скаффолдов, помещённых в 24-луночные планшеты, наносилась суспензия. Приготовленные суспензии со скаффолдами инкубировали при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂. Через 48 часов клетки, прикрепленные к поверхности скаффолдов, фиксировали в течение 20 минут в 1 % параформальдегиде (Merck, Дармштадт, Германия), а затем в течение 5 минут в метаноле (Экрос, Москва, Россия) при -20 °C. Далее скаффолды с зафиксированными клетками пермеабелизировали в 0,1 об./мас. % Triton X-100/PBS (Triton X-100 – неионное поверхностно-активное вещество, купленное у компании Merck, Дармштадт, Германия; PBS – фосфатный буферный солевой раствор, приобретённый у компании Биолот, Санкт-Петербург, Россия) в течение 5 минут и промывали в фосфатно-солевом буфере (PBS). Далее скаффолды обрабатывали блокирующим раствором 1,0 мас. % BSA/PBS (BSA – бычий сывороточный альбумин, Merck, Дармштадт, Германия) в течение 1 часа (этот шаг позволяет уменьшить неспецифическое связывание окрашивающих антител). Для визуализации клеточного цитоскелета использовали следующие антитела: виментин (V9, sc-6260, Santa Cruz Biotechnology, Даллас, Техас, США) и винкулин (7F9, sc-73614, Santa Cruz Biotechnology, Даллас, Техас, США). Вторичные антитела, конъюгированные с Alexa488 (Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), использовали для окончательного окрашивания. Ядра клеток визуализировали с помощью 4',6-диамидин-2-фенилиндола (Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США). Флуоресцентные фотографии клеток на поверхности скаффолдов получали при увеличении $\times 20$ с помощью инвертированного микроскопа (Axio Observer 3, Carl Zeiss AG, Оберкохен, Германия).

Морфологию клеток на поверхности модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов исследовали на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ,

JSM-7001F, Jeol, Акисима, Япония) при увеличении $\times 1200$. Фибробласты десны человека осаждались на поверхность скаффолдов по методике, описанной ранее в разделе 2.4.2. Методом магнетронного распыления (Emitech K950 с модулем K350, Ашфорд, Кент, Англия) на поверхность исследуемых скаффолдов с клетками наносили тонкую плёнку золота толщиной 40 нм. Нанесение золота было необходимо для рассеивания заряда, который накапливается при работе электронного микроскопа.

Исследование биосовместимости модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов на эмбриональных фибробластах мыши (NIH/3T3) было выполнено в Институте физики прочности и материаловедения СО РАН докторами технических наук Бакиной Ольгой Владимировной и Лернером Маратом Израильевичем. Фибробласты были взяты из государственного научно-исследовательского центра вирусологии и биотехнологии (VECTOR, Новосибирск, Россия). В качестве модельной биологической жидкости для исследования биосовместимости образцов использовали MEM среду (minimal essential medium, Лонза, Базель, Швейцария) в соответствии со стандартом ISO 10993-5. Фибробласты NIH/3T3 культивировали в MEM среде с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (HyClone, Логан, Юта, США), 2 мМ L-глутамин (HyClone, Логан, Юта, США) и 1 % пенициллин-стрептомицин (HyClone, Логан, Юта, США) в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С в течение 24 часов. Отдельно от клеток в MEM среду также погружали ПЛГА образцы и затем помещали в инкубатор при 37 °С в течение 24 часов. MEM среду без ПЛГА скаффолдов культивировали для получения контрольных образцов. Все эксперименты были проведены в трех повторях.

Полученные MEM экстракты с ПЛГА образцами использовали для МТТ-теста, который основан на реакции 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромида (МТТ, Панэко, Москва, Россия) с редуктазами в живых клетках, что приводит к образованию формазана, окрашивающего экстракт в фиолетовый цвет. Клетки NIH/3T3 в MEM среде (концентрация 10⁵ клеток/мл)

помещали в каждую лунку стерильного 96-луночного микропланшета и инкубировали в увлажнённой атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С до достижения около 90 % конфлюентности. Затем по 100 мкл раствора из экстрактов ПЛГА добавляли в лунки микропланшета и инкубировали в течение 24, 48 и 96 часов в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С. Для подсчёта клеток использовали TC20 Automated Cell Counter (Bio-Rad, Москва, Россия). Затем в лунки добавляли раствор МТТ и инкубировали в течение 2 часов в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С. Оптическую плотность (*ОП*) определяли с помощью микропланшетного спектрофотометра (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) при длине волны 570 нм. Относительную скорость роста (*ОСР*) рассчитывали по следующей формуле [146]:

$$ОСР = 100 \cdot ОП_{\text{скаффолд}} / ОП_{\text{контроль}} \quad (2.12)$$

где *ОП*_{скаффолд} – оптическая плотность клеток, инкубированных в экстракте с немодифицированными и модифицированными ПЛГА скаффолдами; *ОП*_{контроль} – оптическая плотность клеток, посчитанная в контрольных пробирках (среда без ПЛГА скаффолдов).

Микрофотографии NIH/3T3 клеток делали с использованием оптического микроскопа (Axio Vert A1 Mat, Carl Zeiss AG, Оберкохен, Германия) при увеличении ×500.

Исследование биосовместимости модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов на фибробластах десны человека было выполнено в Институте цитологии РАН доктором биологических наук Малашичевой Анной Борисовной. Фибробласты были взяты из Покровского банка стволовых клеток (Санкт-Петербург, Россия). ПЛГА скаффолды помещали в 24-луночные микропланшеты и в каждую лунку добавляли около 40000 клеток. Контрольное количество клеток рассчитывали в лунках без ПЛГА скаффолдов. Клетки инкубировали в течение 24 часов. Оптическую плотность (*ОП*) клеток, окрашенных с помощью 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромида (МТТ, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, США), оценивали с использованием устройства Varioskan LUX (Thermo Fisher Scientific, Уолтем,

Массачусетс, США) при длине волны 590 нм. Относительную скорость роста клеток рассчитывали в соответствии с формулой (2.12).

2.4.3. Анализ биосовместимости *in vivo*

Регенерация слизистой оболочки полости рта с помощью модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран была исследована на белых крысах линии Вистар в Сибирском государственном университете. Работу проводили кандидат медицинских наук Коняева Анастасия Денисовна и доктор медицинских наук Варакута Елена Юрьевна. Для этого у крыс были искусственно сформированы раневые дефекты путём иссечения лоскута слизистой оболочки щеки размерами 7×4 мм². На рисунке 2.15 показана фотография крысы с иссечённым лоскутом.

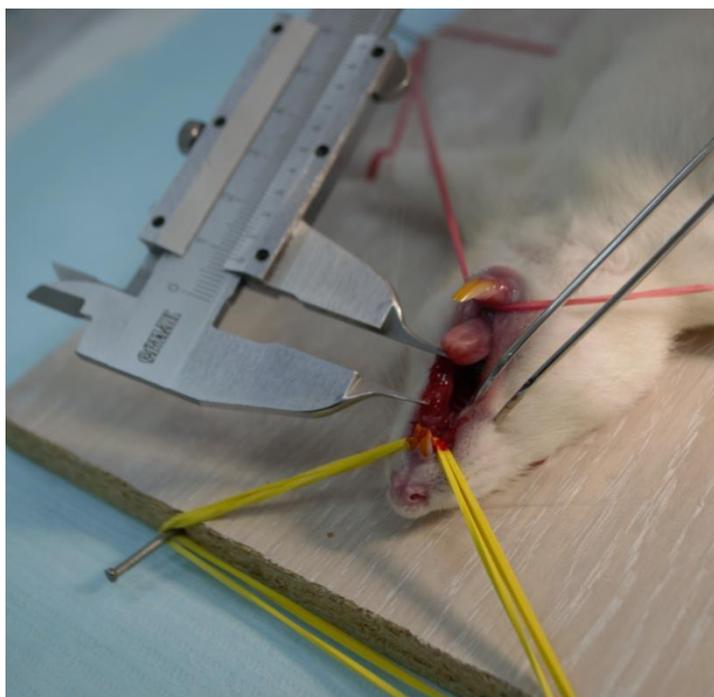


Рисунок 2.15 – Фотография крысы с искусственно сформированным раневым дефектом

Для эксперимента были взяты 3 группы по 10 крыс в каждой. В первой (контрольной) группе заживление раны происходило путём вторичного натяжения без использования ВДФ-ТеФЭ мембран. Во второй и третьей группах использовали немодифицированные и модифицированные нетканые ВДФ-ТеФЭ материалы,

соответственно. Мембраны с медью прикреплялись к щеке крыс немодифицированной стороной.

Размеры полимерных мембран составляли 1×1 см². Крыс выводили из эксперимента с помощью камеры, наполненной углекислым газом, на третий и седьмой дни. С раневых поверхностей были получены гистологические срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали по Ван Гизону и гематоксилин-эозином и затем анализировали с помощью оптического микроскопа Axio Scope 40 (Carl Zeiss AG, Оберкохен, Германия) при режиме светлого поля в проходящем свете.

Гистоморфометрическую оценку проводили с использованием программного пакета ImageJ 1.43 (Национальные институты здоровья, Бетесда, Мэриленд, США). При такой оценке были определены конкретные области грануляции и соединительной ткани, а также степень лимфогистиоцитарной инфильтрации.

Эксперименты на животных были одобрены Местным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (разрешение № 5523/1 от 06 марта 2018 года). Исследование проводилось в соответствии с принципами гуманного обращения с лабораторными животными, описанными в работе [147]. Перед исследованием все мембраны были стерилизованы в атмосфере этиленоксида с использованием газового стерилизатора AN4000 (Andersen Sterilisers, Хо-Ривер, Северная Каролина, США).

2.5. Моделирование антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента

С целью оптимизации лечебно-диагностических процессов было проведено математическое моделирование медико-биологических процессов, направленное на прогнозирование антибактериальных свойств различных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента в них, и была разработана программа для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств композитных материалов в зависимости от концентрации антибактериального

агента» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023661050 от 26 мая 2023 г., приведено в Приложении Ж).

Программа основана на допущении того, что антибактериальная активность различных агентов (АА) подчиняется сигмоидальным законам [148–150]. Экспериментальные данные об антибактериальных свойствах исследуемых скаффолдов были аппроксимированы сигмоидальной функцией:

$$AA = \left(\frac{1}{1 + e^{-a(x-b)}} \right) \cdot 100\% \quad (2.13)$$

где a и b – калибровочные коэффициенты, которые рассчитываются с учётом экспериментальных данных; x – значение концентрации антибактериального агента в исследуемом материале.

Разработанное программное обеспечение предназначено для лечения и медицинской реабилитации заболеваний и прогнозирования антибактериальных свойств различных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента, следовательно, позволяет оптимизировать лечебные процессы с применением материалов медицинского назначения с биоактивными агентами. Программа для ЭВМ была разработана с использованием языка программирования Python версии 3.10, который имеет открытый исходный код. Функционал программы для ЭВМ приведен в Приложении 3.

2.6. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка проводилась с использованием параметрического дисперсионного анализа ANOVA и непараметрических тестов Манна-Уитни и Уилкоксона в программе OriginPro® 2021 (OriginLab, Нортгемптон, Массачусетс, США) и в программе Statistica 6.0 (StatSoft, Талса, Оклахома, США). Параметры распределений рассчитывали следующим образом: для физико-химических, бактериальных и клеточных параметров – среднее значение и стандартное отклонение; для гистологических параметров – медиану, 25 % квартиль и 75 % квартиль. Различия считались статистически значимы при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные, антибактериальные и биологические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления меди

3.1. Внешний вид ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.1 приведены фотографии обеих сторон (верх, низ) немодифицированных и модифицированных методом магнетронного распыления меди нетканых мембран, изготовленных на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТеФЭ).

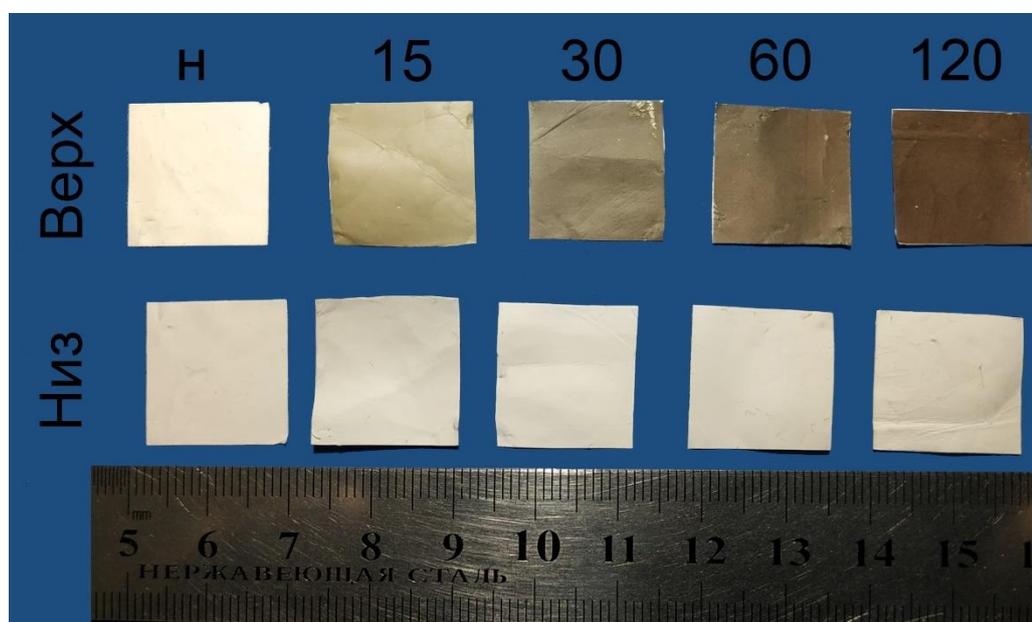


Рисунок 3.1 – Изображения немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран. Немодифицированные образцы обозначаются «н», модифицированные в течение 15, 30, 60, 120 секунд обозначаются «15», «30», «60» и «120», соответственно

Немодифицированные ВДФ-ТеФЭ мембраны (Рисунок 3.1, н) с обеих сторон белого цвета. Все модифицированные образцы с нижней стороны сохраняют свой первоначальный белый цвет, поскольку эта сторона не подвергалась плазменной обработке. При модифицировании мембран в течение 15 ÷ 120 секунд цвет их поверхности с верхней стороны изменяется от золотистого до коричневого, что косвенно подтверждает увеличение концентрации меди на поверхности образцов.

3.2. Морфология поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.2 представлены СЭМ изображения немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран при увеличениях $\times 1000$, $\times 60000$ и гистограммы распределения диаметров волокон.

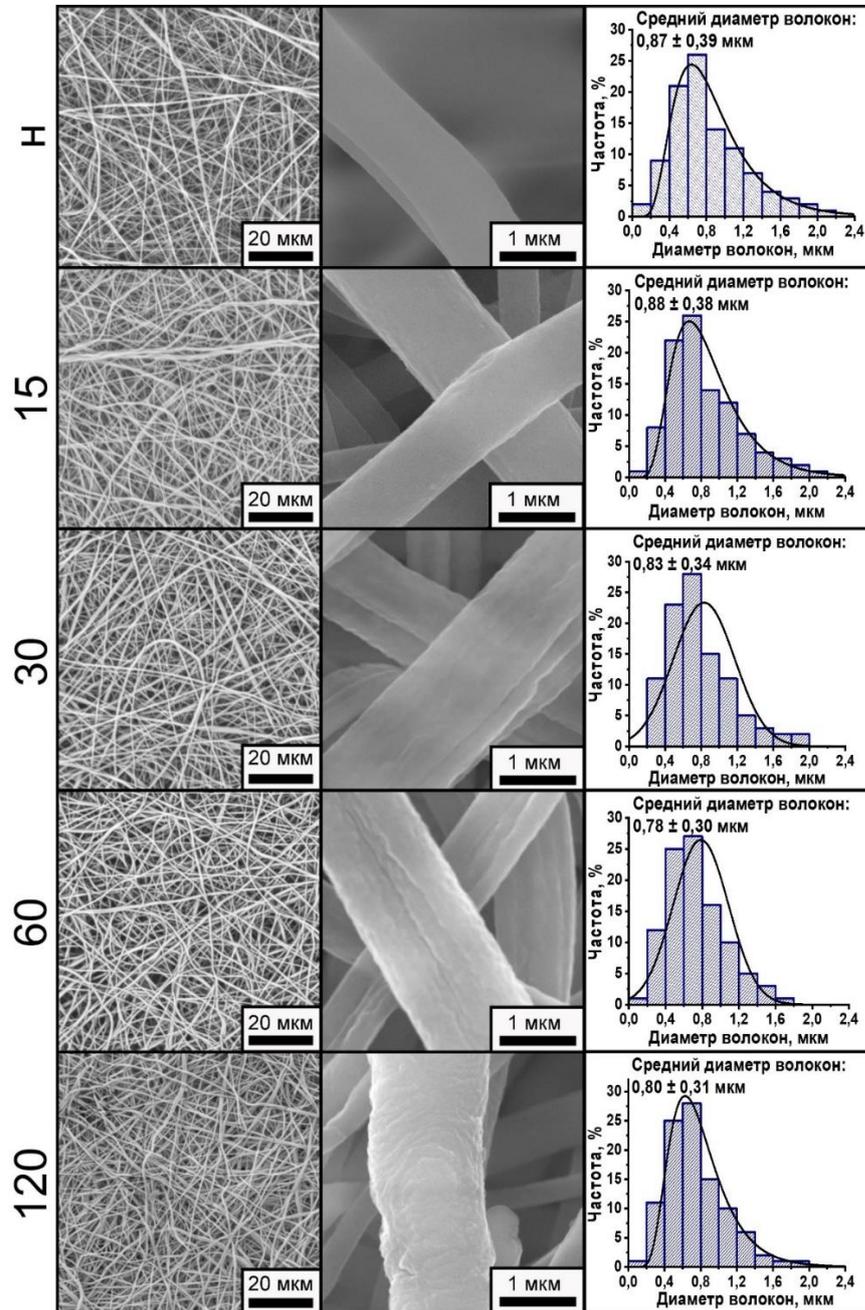


Рисунок 3.2 – СЭМ изображения немодифицированных (H) и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран (15, 30, 60, 120) при увеличениях $\times 1000$ (левый столбец), $\times 60000$ (посередине) и соответствующие гистограммы распределения диаметров волокон (правый столбец)

На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 1000$, можно наблюдать волокнистую структуру, которая состоит из хаотично переплетённых волокон полимера (Рисунок 3.2, слева). После плазменного модифицирования полимерные волокна сохранили свою целостность и первоначальный вид, следовательно, выбранные режимы модифицирования не изменяют морфологию мембран.

На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 60000$, можно наблюдать отдельные волокна (Рисунок 3.2, посередине). Волокна немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран имеют гладкую и ровную поверхность (Рисунок 3.2, посередине, н). Модифицирование мембран в течение 15 секунд приводит к образованию небольших неровностей на поверхности волокон (Рисунок 3.2, посередине, 15). При модифицировании ВДФ-ТеФЭ мембран в течение 30 секунд поверхность их волокон становится более шероховатой, что может свидетельствовать о формировании тонкого медного покрытия (рисунок 3.2 посередине, 30). У образцов «60» можно наблюдать более развитую и шероховатую поверхность (рисунок 3.2 посередине, 60), чем у мембран «30».

Поверхность волокон у образцов, модифицированных в течение 120 секунд, имеет наибольшую шероховатость и бугристость (Рисунок 3.2, посередине, 120). С увеличением длительности плазменного модифицирования поверхность волокон нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов становится более развитой. Результаты согласуются с работой, в которой было показано, что шероховатость медной плёнки увеличивается с увеличением длительности магнетронного распыления [151]. Увеличение шероховатости также свидетельствует об увеличении толщины медной плёнки [152]. Таким образом, наиболее вероятный процесс роста пленок на нетканых материалах происходит в соответствии с трёхмерным островковым механизмом [151–153] (моделью Вольмера – Вебера [154]), согласно которому появляются и растут изолированные островки, по мере увеличения сливающиеся и образующие плёнку [155].

Гистограммы распределения диаметров волокон ВДФ-ТеФЭ мембран подчиняются в основном логнормальному распределению (Рисунок 3.2, справа).

Средние диаметры волокон немодифицированных и модифицированных нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов варьируются в диапазоне $(0,78 \div 0,88) \pm 0,38$ мкм (Рисунок 3.2, справа). Модифицирование поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран методом магнетронного распыления медной мишени в течение $15 \div 120$ секунд достоверно не влияет на значения среднего диаметра волокон, которые были посчитаны по СЭМ изображениям при увеличении $\times 1000$.

3.3. Элементный и химический составы поверхностей ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.3 приведены спектры, полученные методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС) немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ образцов.

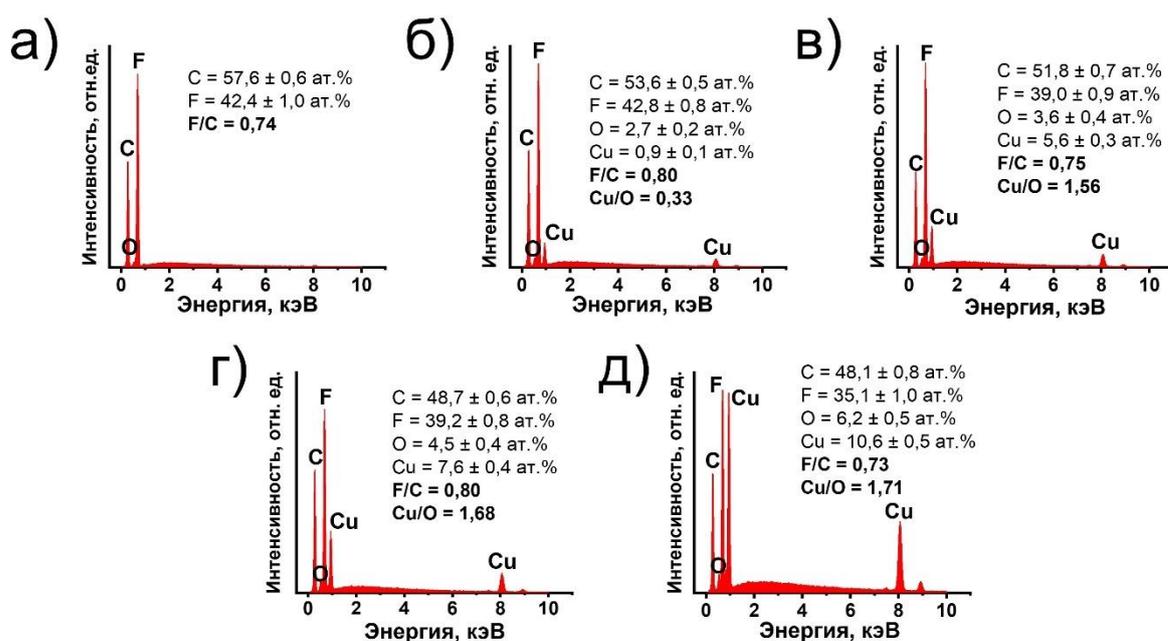


Рисунок 3.3 – ЭДРС спектры немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) ВДФ-ТеФЭ мембран: а) н, б) 15, в) 30, г) 60, д) 120.

Концентрации элементов на всех спектрах представлены в атомных процентах (ат. %)

На немодифицированных образцах наблюдаются только пики углерода (C = $57,6 \pm 0,6$ ат. %) и фтора (F = $42,4 \pm 1,0$ ат. %) (Рисунок 3.3а). При модифицировании поверхности нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов медью в течении 15 секунд помимо

углерода ($C = 53,6 \pm 0,5$ ат. %) и фтора ($F = 42,8 \pm 0,8$ ат. %) появляются пики кислорода ($O = 2,7 \pm 0,2$ ат. %) и меди ($Cu = 0,9 \pm 0,1$ ат. %) (Рисунок 3.3б). Углерод ($C = 51,8 \pm 0,7$ ат. %), фтор ($F = 39,0 \pm 0,9$ ат. %), кислород ($O = 3,6 \pm 0,4$ ат. %) и медь ($Cu = 5,6 \pm 0,3$ ат. %) наблюдаются на ЭДРС спектрах мембран, модифицированных в течение 30 секунд (Рисунок 3.3в). На ЭДРС спектрах образцов «60» наблюдаются пики углерода ($C = 48,7 \pm 0,6$ ат. %), фтора ($F = 39,2 \pm 0,8$ ат. %), кислорода ($O = 4,5 \pm 0,4$ ат. %) и меди ($Cu = 7,6 \pm 0,4$ ат. %) (Рисунок 3.3г). На ЭДРС спектрах мембран «120» наблюдаются углерод ($C = 48,1 \pm 0,8$ ат. %), фтор ($F = 35,1 \pm 1,0$ ат. %), кислород ($O = 6,2 \pm 0,5$ ат. %) и медь ($Cu = 10,6 \pm 0,5$ ат. %) (Рисунок 3.3д).

На основании ЭДРС спектров можно отметить, что количество меди на мембранах «120» в $\sim 11,8$ раз больше, чем на мембранах «15». С увеличением длительности модифицирования с 15 до 120 секунд количество кислорода увеличивается в $\sim 2,3$ раза. Увеличение концентрации меди и кислорода может свидетельствовать о насыщении приповерхностных слоёв медью и оксидами меди. Соотношение фтора к углероду (F/C) для немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран изменяются в узких интервалах от 0,73 до 0,80. Это свидетельствует об отсутствии существенного влияния плазменного модифицирования на концентрацию химических соединений, входящих в состав ВДФ-ТеФЭ. Увеличение соотношения меди к кислороду (Cu/O) с увеличением длительности модифицирования косвенно указывает на увеличение толщины слоя меди на мембранах.

На рисунке 3.4 представлены обзорные спектры, полученные методом рентгеновской фотоэлектронной микроскопии (РФЭС) немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ образцов.

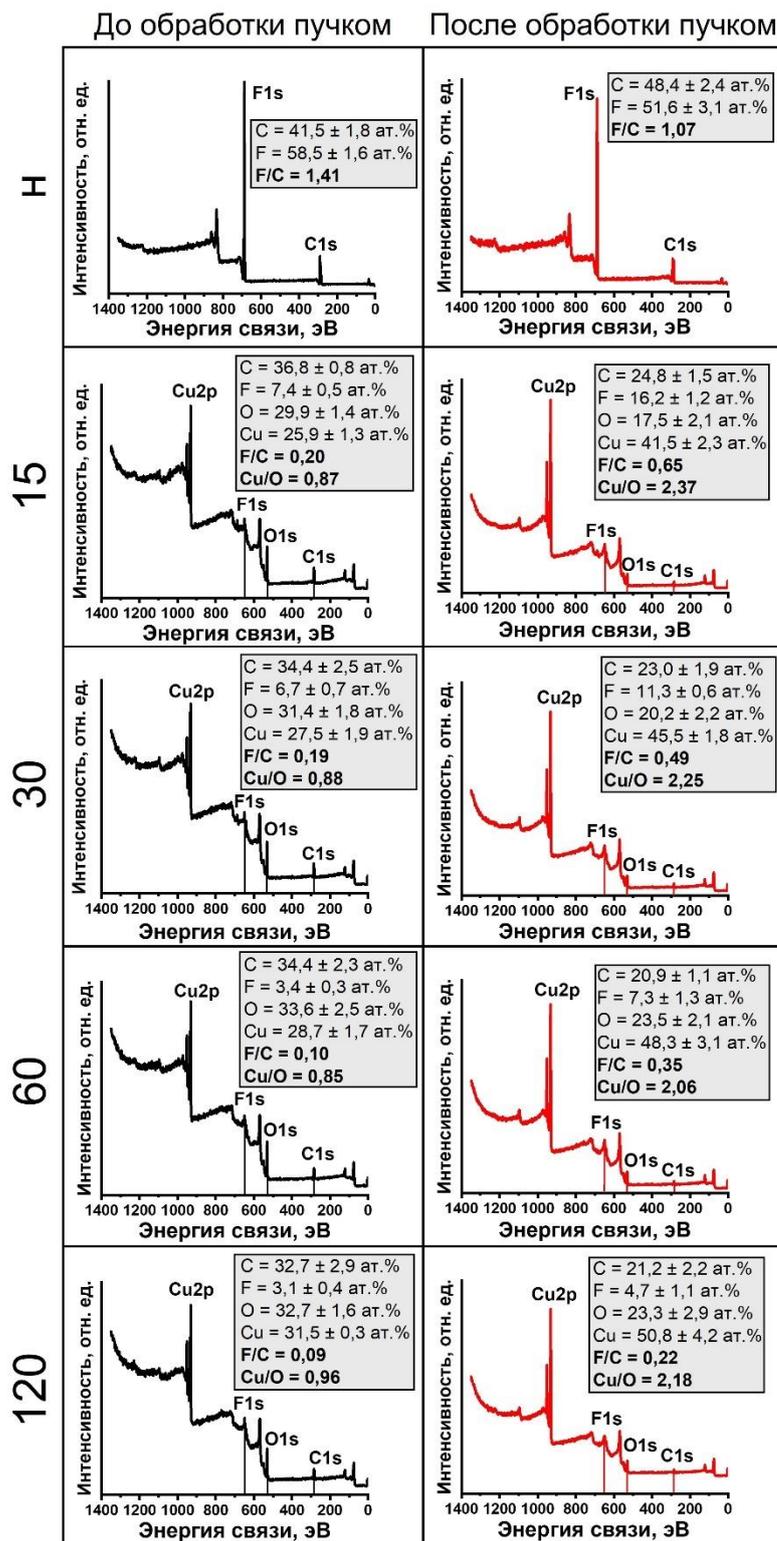


Рисунок 3.4 – Обзорные РФЭС спектры немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) мембран до их обработки пучком ионов аргона (слева) и после (справа). Концентрации элементов на всех спектрах представлены в атомных процентах (ат. %)

На обзорных РФЭС спектрах немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком ионов аргона наблюдаются только пики углерода ($C = 41,5 \pm 1,8$ ат. %) и фтора ($F = 58,5 \pm 1,6$ ат. %) (Рисунок 3.4, слева, н). На обзорных РФЭС спектрах мембран «15» до их обработки пучком ионов аргона можно заметить пики углерода ($C = 36,8 \pm 0,8$ ат. %), фтора ($F = 7,4 \pm 0,5$ ат. %), кислорода ($O = 29,9 \pm 1,4$ ат. %) и меди ($Cu = 25,9 \pm 1,3$ ат. %) (Рисунок 3.4, слева, 15). На обзорных РФЭС спектрах мембран «30» до их обработки пучком ионов можно заметить пики углерода ($C = 34,4 \pm 2,5$ ат. %), фтора ($F = 6,7 \pm 0,7$ ат. %), кислорода ($O = 31,4 \pm 1,8$ ат. %) и меди ($Cu = 27,5 \pm 1,9$ ат. %) (Рисунок 3.4, слева, 30). На РФЭС спектрах ВДФ-ТеФЭ образцов «60» до их обработки пучком ионов наблюдаются пики углерода ($C = 34,4 \pm 2,3$ ат. %), фтора ($F = 3,4 \pm 0,3$ ат. %), кислорода ($O = 33,6 \pm 2,5$ ат. %) и меди ($Cu = 28,7 \pm 1,7$ ат. %) (Рисунок 3.4, слева, 60). На РФЭС спектрах образцов, модифицированных в течение 120 секунд до их обработки ионным пучком аргона, наблюдаются пики углерода ($C = 32,7 \pm 2,9$ ат. %), фтора ($F = 3,1 \pm 0,4$ ат. %), кислорода ($O = 32,7 \pm 1,6$ ат. %) и меди ($Cu = 31,5 \pm 0,3$ ат. %) (Рисунок 3.4, слева, 120). Появление пиков кислорода после модифицирования ВДФ-ТеФЭ мембран связано с тем, что их химически активная поверхность взаимодействует с атмосферным воздухом, образуя тонкую оксидную плёнку Cu [156].

На обзорных РФЭС спектрах модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком ионов (Рисунок 3.4, слева) можно заметить, что соотношение меди к кислороду практически не зависит от длительности модифицирования ($Cu/O = 0,85 \div 0,96$). Такие данные не совпадают с ЭДРС результатами (Рисунок 3.3), что связано с чрезвычайно малой глубиной сканирования РФЭС методом ($\sim 1 - 5$ нм) [157].

После плазменного модифицирования полимерных мембран медью соотношение F/C существенно уменьшается в $\sim 8 \div 19$ раз (Рисунок 3.4, слева). Это коррелирует с результатами исследований [158, 159], в которых было показано, что химические связи $C-F$ легко разрушаются при обработке ионно-пучковыми и плазменными методами.

После воздействия на поверхность немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран ионным пучком концентрация углерода увеличивается в $\sim 1,2$ раза (Рисунок 3.4, слева и справа, н). При этом у модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран количество углерода уменьшается в $\sim 1,5 \div 1,6$ раз. Это может указывать на то, что при модифицировании на поверхностях образцов могут сорбироваться различные органические загрязнения, которые повсеместно содержатся в окружающем воздухе и состоят преимущественно из углерода [160, 161]. Поэтому, когда поверхность модифицированных мембран обрабатывается ионным пучком, концентрация углерода уменьшается, а не увеличивается, поскольку удаляются органические загрязнения. После обработки пучком ионов модифицированных ВДФ-ТеФЭ образцов, количество фтора и меди увеличивается в $\sim 1,5 \div 2,1$ и в $\sim 1,5 \div 1,6$ раз, соответственно. Это также указывает на процесс травления приповерхностных слоёв полимерных мембран.

На рисунке 3.5 отображены спектры валентной зоны в области $\text{Cu}2p_{3/2}$, полученные при анализе методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ образцов до их обработки пучком ионов и после.

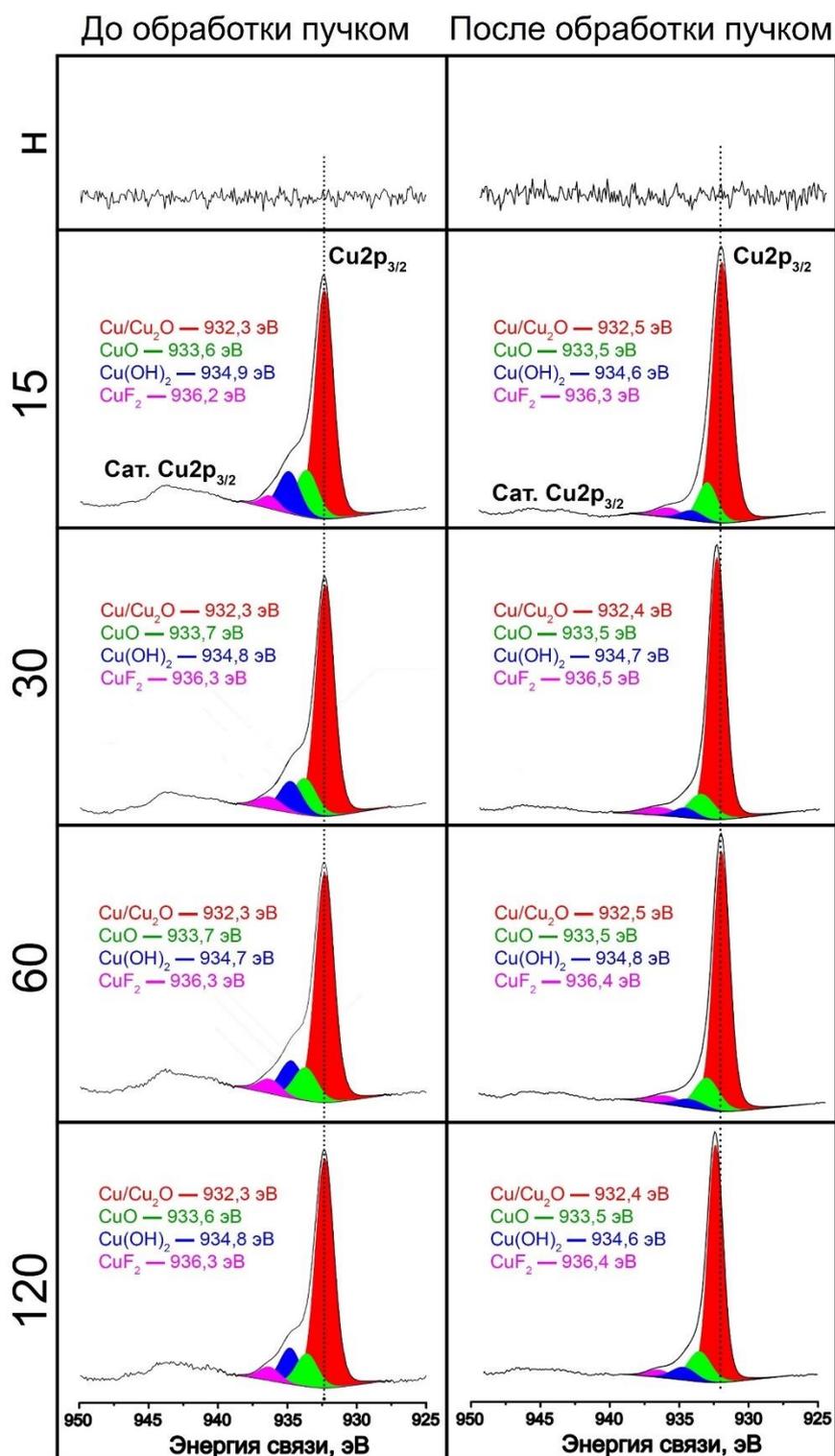


Рисунок 3.5 – $\text{Cu}2p_{3/2}$ РФЭС спектры немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) мембран до их обработки пучком ионов (слева) и после (справа). Условным обозначением «Cat. $\text{Cu}2p_{3/2}$ » отмечены сателлитные пики $\text{Cu}2p_{3/2}$

На $\text{Cu}2p_{3/2}$ спектрах немодифицированных образцов отсутствуют пики меди (Рисунок 3.5, н). На РФЭС спектре модифицированных в течение 15 секунд ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком можно наблюдать четыре компонента (Рисунок 3.5, слева, 15). Наиболее интенсивная красная компонента с пиком в точке 932,3 эВ указывает на наличие металлической меди (Cu) и оксида меди I (Cu_2O) [162]. Зелёная компонента с максимумом в области 933,6 эВ характеризует оксид меди II (CuO) [162]. Синяя и фиолетовая компоненты с максимумами в точках 934,9 эВ и 936,2 эВ указывают на наличие гидроксида меди ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) [163] и фторида меди (CuF_2) [162], соответственно. Сателлитный пик (Sat. $\text{Cu}2p_{3/2}$) в области энергий 938 – 948 эВ свидетельствует о присутствии двухвалентных соединений меди.

Четыре компонента ($\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}$, CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ и CuF_2) также характерны для модифицированных в течение 30 ÷ 120 секунд ВДФ-ТеФЭ мембран, не обработанных ионным пучком (Рисунок 3.5, слева).

Образование композитных тонких пленок, состоящих из Cu, Cu_2O , CuO и $\text{Cu}(\text{OH})_2$ на поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран, можно объяснить взаимодействием поверхности модифицированных образцов с окружающим воздухом. Cu_2O может возникнуть в результате окисления меди на воздухе. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ образуется при взаимодействии Cu с находящимися в воздухе молекулами воды [164]. Часть $\text{Cu}(\text{OH})_2$ соединений может взаимодействовать с $-\text{OH}^-$ группами, таким образом образуя $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$. Такой молекулярный ион нестабилен и распадается на следующие химические соединения: CuO , $-\text{OH}^-$, H_2O [164, 165]. Соединения CuF_2 могут возникать в результате взаимодействия ионов меди со свободными ионами фтора на поверхности фторполимерных мембран [166].

После обработки ионным пучком положения максимумов у модифицированных ВДФ-ТеФЭ образцов смещаются в область энергий 932,4 ÷ 932,5 эВ (Рисунок 3.5, справа). Такое смещение может свидетельствовать об уменьшении относительной концентрации Cu_2O и увеличении Cu. Также, после обработки пучком ионов наблюдается уменьшение относительной интенсивности сателлитных пиков в диапазоне энергий 938 ÷ 948 эВ, что свидетельствует об

уменьшении концентрации соединений с двухвалентной медью. Деконволюция спектров модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран после их обработки пучком ионов позволяет выделить те же четыре компонента, которые были описаны для образцов до их обработки пучком: $\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}$, CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ и CuF_2 (Рисунок 3.5, справа). Обработка пучком ионов модифицированных медью мембран уменьшает интенсивность соединений $\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuF_2 и увеличивает концентрацию Cu , Cu_2O (Рисунок 3.5, справа). Это может свидетельствовать о том, что внешний слой медной плёнки, расположенный на поверхности волокон, состоит преимущественно из $\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuF_2 , а внутренний слой медной плёнки состоит из оксида меди (I) и меди металлической.

На рисунке 3.6 продемонстрированы спектры валентной зоны в области $\text{C}1s$, полученные при анализе поверхности немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком ионов аргона и после.

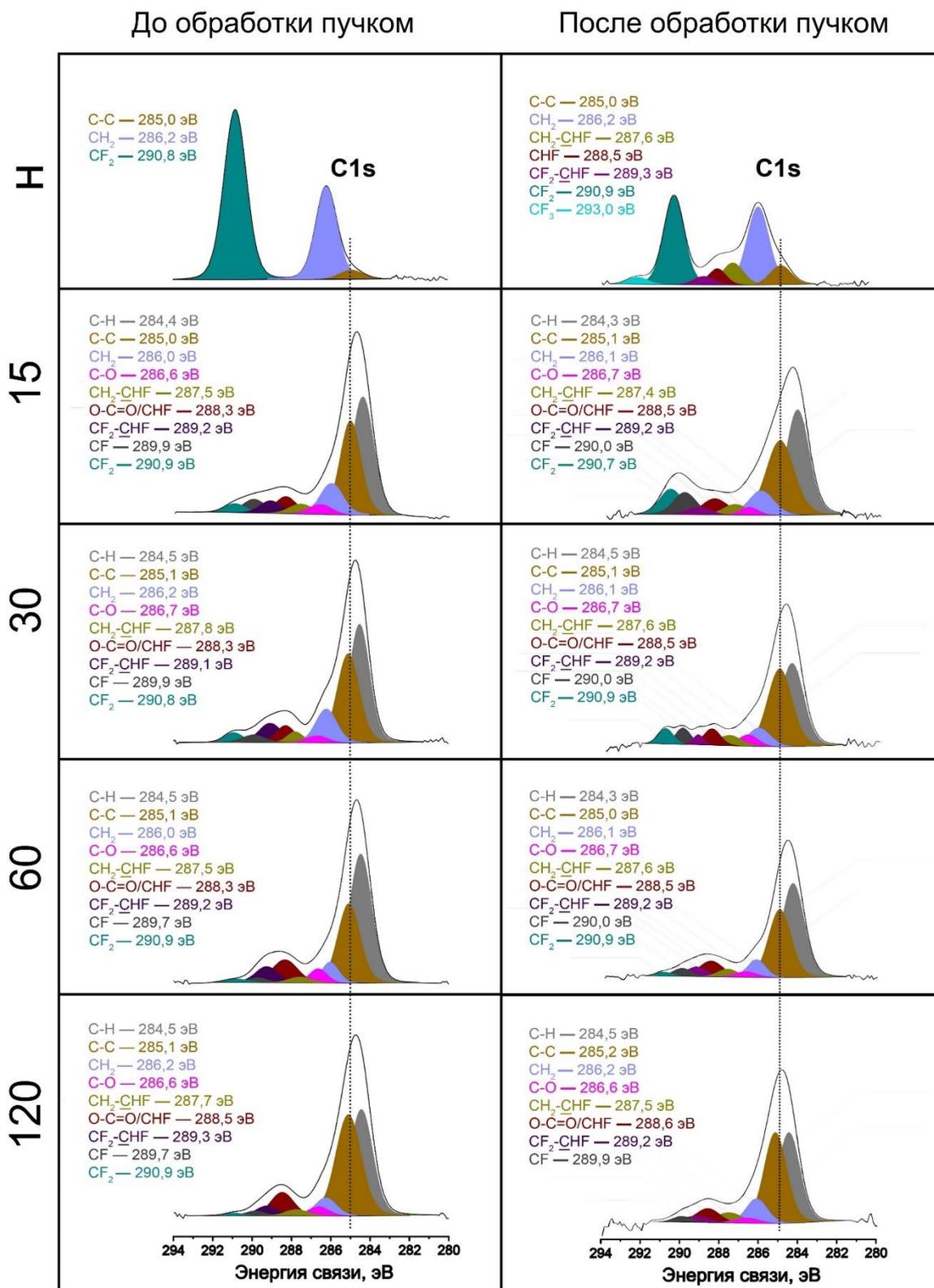


Рисунок 3.6 – C1s РФЭС спектры немодифицированных (H) и модифицированных (15, 30, 60, 120) ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком ионов (слева) и после (справа)

На $C1s$ спектре немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран до обработки пучком ионов можно выделить три компонента с максимумами в точках 285,0 эВ, 286,2 эВ и 290,8 эВ, которые указывают на химические соединения С-С [167], CH_2 [168] и CF_2 [168], соответственно (Рисунок 3.6, слева, н). После обработки пучком ионов у немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран изменяется форма спектра и увеличивается количество пиков (Рисунок 3.6, справа, н). При деконволюции такого спектра можно выявить семь компонент, положения максимумов которых характеризуют следующие химические соединения: С-С (285,0 эВ), CH_2 (286,2 эВ), CH_2-CHF (287,6 эВ) [169, 170], CHF (288,5 эВ) [171], CF_2-CHF (289,3 эВ) [169, 170], CF_2 (290,9 эВ) и CF_3 (293,0 эВ) [172]. На поверхности немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран после их обработки пучком ионов появляются новые химические соединения: CH_2-CHF , CHF , CF_2-CHF , CF_3 . Образование таких соединений после обработки связано с разрывом CH_2 и CF_2 связей и формированием свободных радикалов, которые легко вступают в реакцию с химически активной поверхностью [173].

Деконволюция $C1s$ спектра мембран «15» до их обработки ионным пучком позволяет выделить 9 компонент (Рисунок 3.6 слева, 15), 3 из которых присутствовали в $C1s$ спектре у немодифицированных мембран. Такие 9 компонент соответствуют следующим химическим соединениям: С-Н (284,4 эВ) [171], С-С (285,0 эВ), CH_2 (286,0 эВ), С-О (286,6 эВ) [174], CH_2-CHF (287,5 эВ), О-С=О/ CHF (288,5 эВ) [171, 175], CF_2-CHF (289,3 эВ), CF (289,9 эВ) [170, 174], CF_2 (290,9 эВ). На $C1s$ спектрах ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных в течение 30, 60 и 120 секунд до их обработки пучком (Рисунок 3.6, слева, 30, 60 и 120), положения компонент и их количество остаётся таким же, как на $C1s$ спектре образца «15», однако изменяются интенсивности компонент, которые находятся в области энергий 286 – 291 эВ. После плазменного модифицирования ВДФ-ТеФЭ мембран интенсивность CH_2 и CF_2 компонент существенно падает, в то время как интенсивность С-С компоненты значительно увеличивается (Рисунок 3.6, слева). С увеличением длительности модифицирования уменьшается интенсивность компонент CF_2 , CF , CF_2-CHF , CH_2 , а интенсивность О-С=О/ CHF увеличивается.

Существенное уменьшение интенсивностей компонент CH_2 и CF_2 и увеличение интенсивности C-C после модифицирования ВДФ-ТеФЭ мембран может указывать на появление органических загрязнений [176, 177]. Появление кислородсодержащих соединений C-O и O-C=O также свидетельствует о возникновении органических загрязнений [177]. Образование водородсодержащих и фторсодержащих компонент вида: C-H , $\text{CH}_2\text{-CHF}$, CHF , $\text{CF}_2\text{-CHF}$ и CF после плазменной обработки ВДФ-ТеФЭ мембран может быть связано с разрывом CH_2 [178] и CF_2 [179] связей. Свободные атомы водорода и фтора, возникающие после разрыва химических связей, взаимодействуют друг с другом и с главной полимерной цепью, тем самым образуя вышеперечисленные компоненты.

После обработки пучком ионов модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран уменьшается интенсивность компонент C-C , C-H , а интенсивность CF и CF_2 компонент увеличивается (Рисунок 3.6, справа). Такие результаты согласуются с данными, полученными при анализе обзорных РФЭС спектров (Рисунок 3.4). Незначительное уменьшение концентрации компонент C-C и C-H после обработки пучком ионов свидетельствует о травлении загрязнений с поверхности модифицированных волокон. Увеличение концентрации фторсодержащих компонент после обработки также косвенно свидетельствует о травлении поверхности модифицированных образцов.

На рисунке 3.7 отображены спектры валентной зоны в области $\text{O}1s$ немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран, полученные методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС), до их обработки пучком ионов и после.

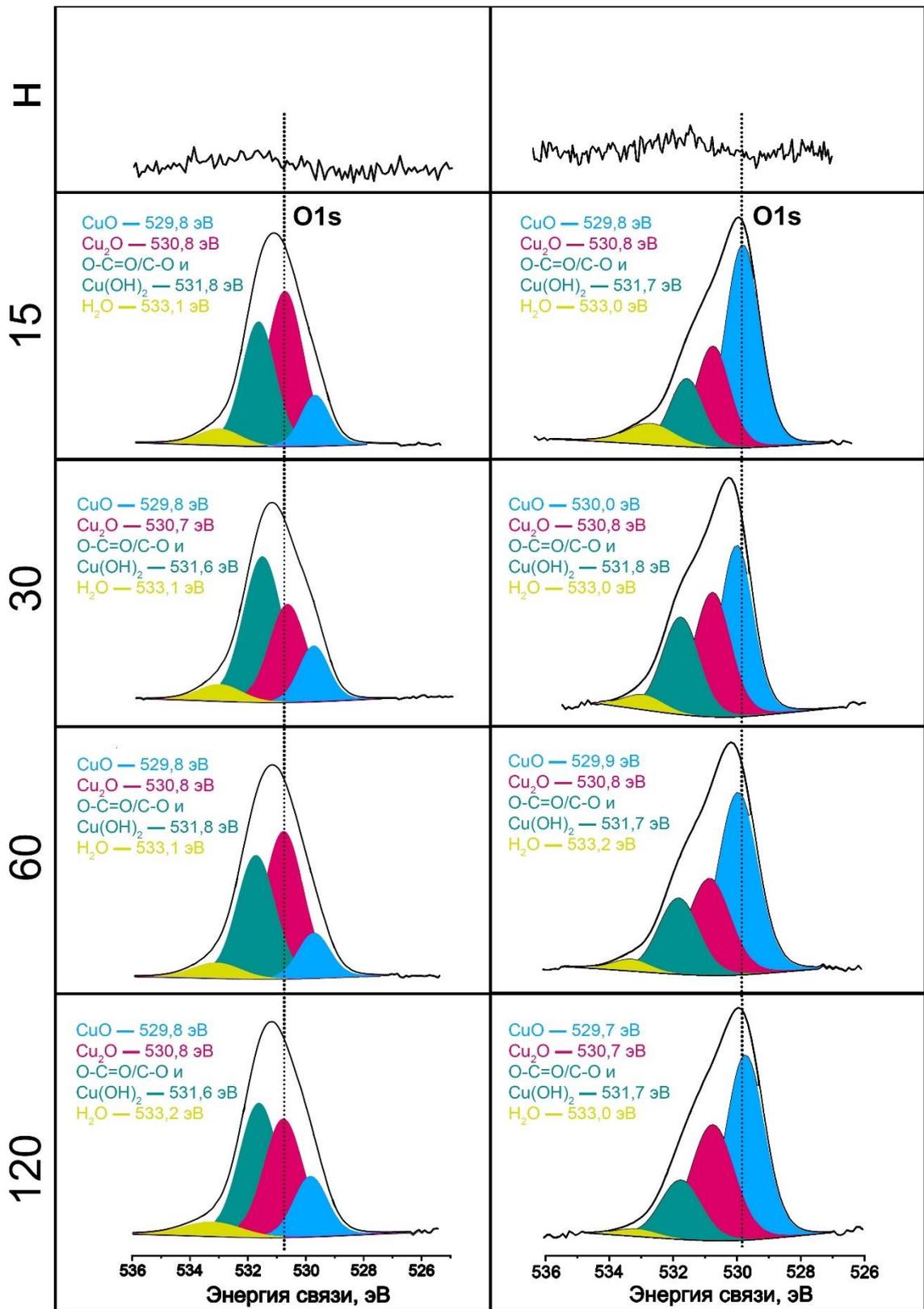


Рисунок 3.7 – O1s РФЭС спектры немодифицированных (н) и модифицированных (15, 30, 60, 120) мембран до их обработки пучком ионов (слева) и после (справа)

На O1s спектрах немодифицированных образцов отсутствуют явные пики, из которых можно выделить отдельные компоненты (Рисунок 3.7, н). На O1s спектре

модифицированных в течение 15 секунд ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком наблюдается рефлекс с максимумом интенсивности в точке 531,1 эВ (Рисунок 3.7, слева, 15). При его деконволюции можно наблюдать четыре компонента с максимумами в точках 529,8 эВ, 530,8 эВ, 531,8 эВ и 533,1 эВ. Компоненты с максимумами интенсивности в точках 529,8, 530,8 и 533,1 эВ характеризуют CuO [180], Cu₂O [181, 182] и H₂O [181], соответственно. Компонента в точке 531,8 эВ свидетельствует о O-C=O/C-O [183] и Cu(OH)₂ [181]. Наличие молекул воды указывает на способность модифицированных скаффолдов сорбировать H₂O из атмосферного воздуха. Наличие воды подтверждает механизм формирования CuO, описанный ранее при исследовании Cu2p_{3/2} спектров (Рисунок 3.5).

После обработки пучком ионов модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран интенсивность CuO существенно увеличивается, а количество соединений O-C=O/C-O, Cu(OH)₂ и H₂O уменьшается. Это указывает на то, что соединение CuO находится в глубине медной плёнки, в то время как соединения O-C=O/C-O и Cu(OH)₂, H₂O находятся непосредственно на поверхности плёнки. Это коррелирует с результатами, полученными при анализе Cu2p_{3/2} спектров, и подтверждает предположение о том, что в процессе модифицирования на волокнах полимера образуется многослойная медьсодержащая плёнка, покрытая углеродными загрязнениями.

3.4. Распределение меди в ВДФ-ТеФЭ мембранах

На рисунке 3.8 приведены СЭМ изображения и распределения интенсивности линии меди (Cu K α) по толщине для поперечного среза модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран. СЭМ изображения были сняты при увеличении $\times 250$, распределения интенсивности меди по толщине были рассчитаны с помощью ЭДРС.

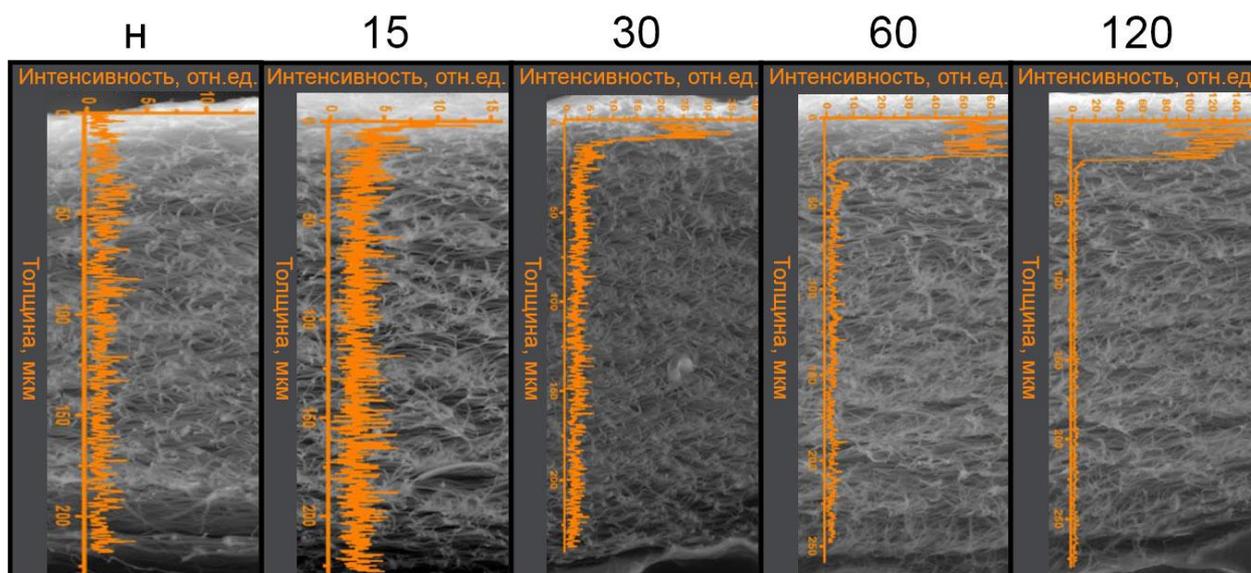


Рисунок 3.8 – Микрофотографии поперечных срезов немодифицированных (н) и модифицированных (15, 30, 60, 120) медью ВДФ-ТеФЭ мембран с наложенными распределениями интенсивности линии меди ($\text{Cu K}\alpha$)

На поперечных срезах немодифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран медь не наблюдается (Рисунок 3.8, н). На профиле поверхности ВДФ-ТеФЭ образцов, модифицированных в течение 15 секунд, в приповерхностной зоне наблюдаются сигналы меди со значениями $\text{Cu K}\alpha \sim 2 \div 14$ (Рисунок 3.8, 15). При модифицировании в течение 30 секунд происходит увеличение максимальной глубины проникновения меди до ~ 15 мкм и сигналы $\text{Cu K}\alpha$ возрастают до значений $\sim 20 \div 35$ (Рисунок 3.8, 30). При модифицировании в течение 60 секунд значения максимальной глубины проникновения меди и интенсивность $\text{Cu K}\alpha$ увеличиваются до ~ 25 мкм и до $\sim 40 \div 60$, соответственно (Рисунок 3.8, 60). При модифицировании в течение 120 секунд максимальная глубина проникновения остаётся на значении ~ 25 мкм, однако интенсивность сигналов меди увеличивается до значений $\sim 80 - 140$ (Рисунок 3.8, 120).

Максимальная глубина проникновения меди внутрь ВДФ-ТеФЭ мембран варьируется в пределах $\sim 6 \div 10$ % от всей их толщины ($15 \div 25$ мкм). Такое ограниченное проникновение атомов меди в объём нетканого материала связано с эффектом затенения [184]. Волокна на поверхности закрывают собой волокна,

находящиеся внутри объёма, что препятствует проникновению меди вглубь материала.

3.5. Кристаллическая структура ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунок 3.9 показаны дифрактограммы немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран, полученные методом рентгеноструктурного анализа.

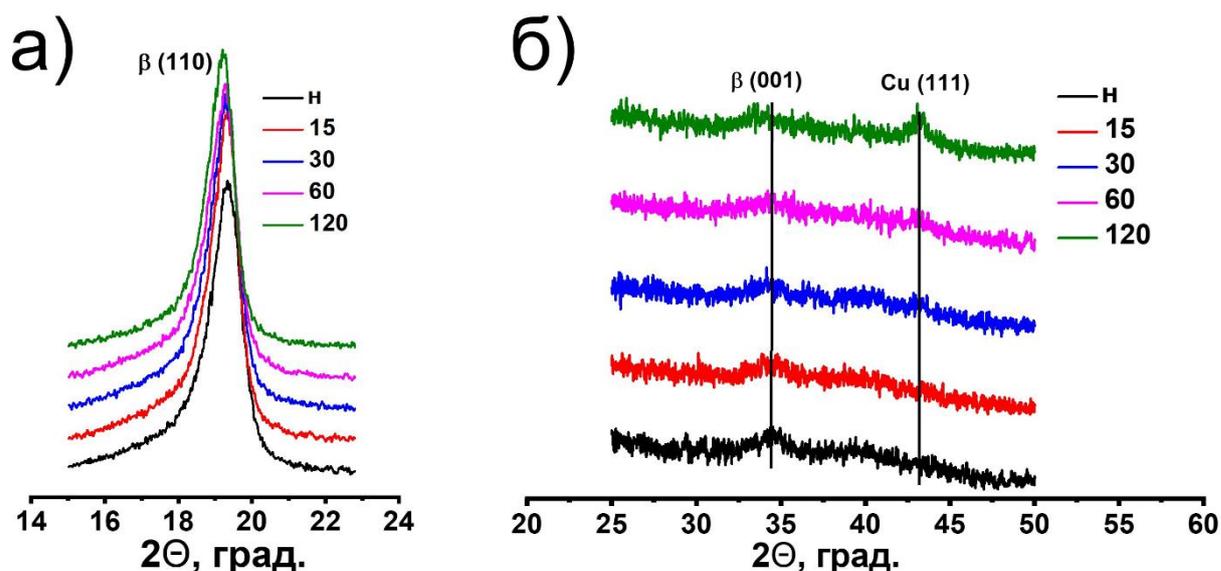


Рисунок 3.9 – Дифрактограммы немодифицированных (н) и модифицированных (15, 30, 60, 120) мембран: а) диапазон сканирования $14 - 24^\circ$; б) диапазон сканирования $25 - 50^\circ$

На дифрактограммах наблюдаются высокоинтенсивные (Рисунок 3.9а) и низкоинтенсивные пики (Рисунок 3.9б). Положения максимумов на значениях $19,3^\circ$ и $34,6^\circ$ свидетельствуют, что у сополимера ВДФ-ТеФЭ наблюдается β -фаза с кристаллическими плоскостями (110) и (001) (Рисунок 3.9). Наличие β -фазы свидетельствует о наличии пьезоэлектрических свойств у немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран [185].

При наибольшей длительности модифицирования (120 секунд) на углах сканирования $43,3^\circ$ можно наблюдать низкоинтенсивный пик металлической меди Cu с кристаллографической плоскостью (111) (Рисунок 3.9б). Появление пика Cu (111) свидетельствует об увеличении толщины медного покрытия с увеличением

длительности модифицирования. Такой пик наблюдался в работе [186], в которой были исследованы тонкие медные плёнки толщиной 270 нм, осаждённые методом магнетронного распыления на поверхность кремниевых пластин.

3.6. Смачиваемость ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.10 представлены фотографии капель воды и глицерина и значения их краевых углов смачивания через 1 минуту после нанесения капель на поверхность немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран.

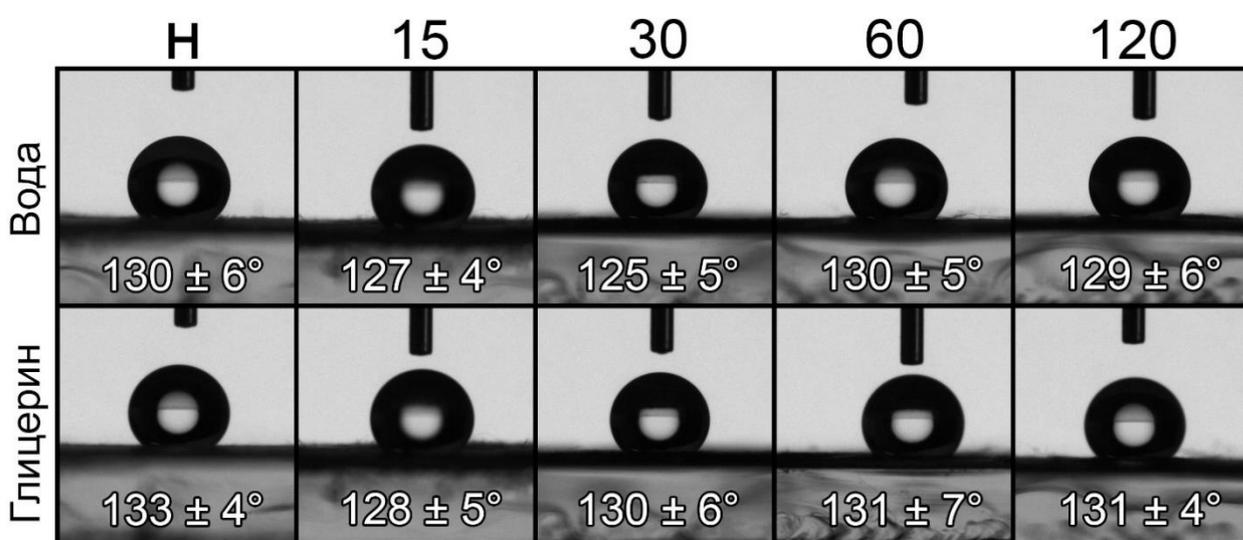


Рисунок 3.10 – Фотографии капель воды (сверху), глицерина (снизу) и значения их краевых углов смачивания через 1 минуту после взаимодействия с поверхностями немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) мембран

Для образцов ВДФ-ТеФЭ значения краевых углов смачивания водой и глицерином находятся в диапазоне $(125 \div 130) \pm 6^\circ$ и $(128 \div 133) \pm 7^\circ$, соответственно (Рисунок 3.10). Подобные высокие значения краевых углов смачивания характерны для фторполимерных материалов, изготовленных методом электроспиннинга [187]. Модифицирование ВДФ-ТеФЭ мембран достоверно не влияет на значения краевых углов смачивания. Сохранение гидрофобных свойств у ВДФ-ТеФЭ образцов после их модифицирования медью связано с гидрофобной природой меди [188]. В работе [189] гидрофобные свойства наблюдались у

волоконных материалов из хлопка, модифицированных медью методом магнетронного распыления.

3.7. Механические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.11 представлены результаты исследования механических свойств немодифицированных и модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран при растяжении.

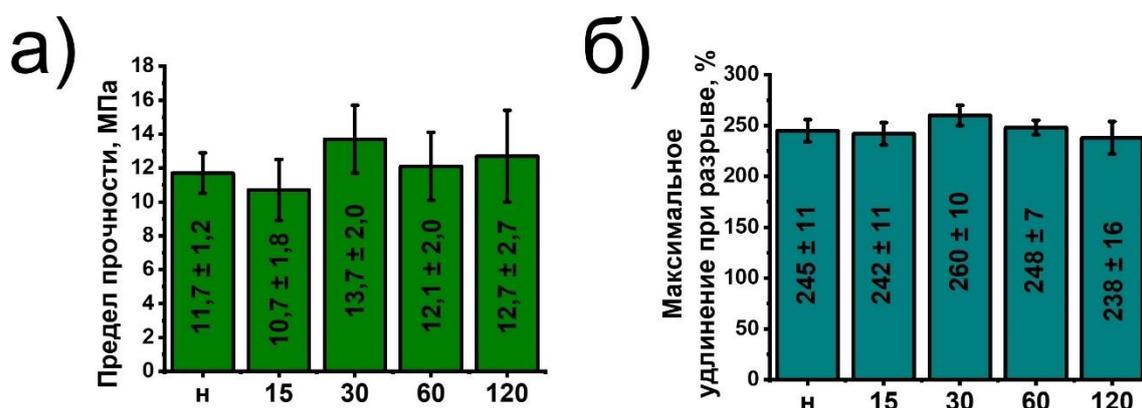


Рисунок 3.11 – Результаты исследования механических свойств немодифицированных (н) и модифицированных (15, 30, 60, 120) мембран: а) предел прочности; б) максимальное удлинение при разрыве

Значения предела прочности и максимального удлинения при разрыве немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ образцов варьируются в пределах $(10,7 \div 13,7) \pm 2,0$ МПа и $(238 \div 260) \pm 16$ %, соответственно (Рисунок 3.11). Таким образом, плазменное модифицирование медью в течение 15 ÷ 120 секунд достоверно не влияет на механические свойства нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов.

Сохранение механических характеристик ВДФ-ТеФЭ мембран после их модифицирования объясняется тем, что плёнки наносились только на приповерхностные слои до $\sim 6 \div 10$ % от всей толщины мембран, в то время как большая часть объема не подвергалась модифицированию. Сохранение механических характеристик также связано с сохранением морфологии поверхности мембран после их модифицирования при выбранных режимах. В ряде

работ [190–192] было отмечено, что предел прочности нетканых полимерных материалов, главным образом, зависит от их морфологии и значений средних диаметров волокон.

3.8. Антибактериальные свойства ВДФ-ТеФЭ мембран

На рисунке 3.12 отображены результаты исследования антибактериальных свойств немодифицированных и модифицированных медью нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов с использованием бактерий *S. Aureus* (золотистый стафилококк).

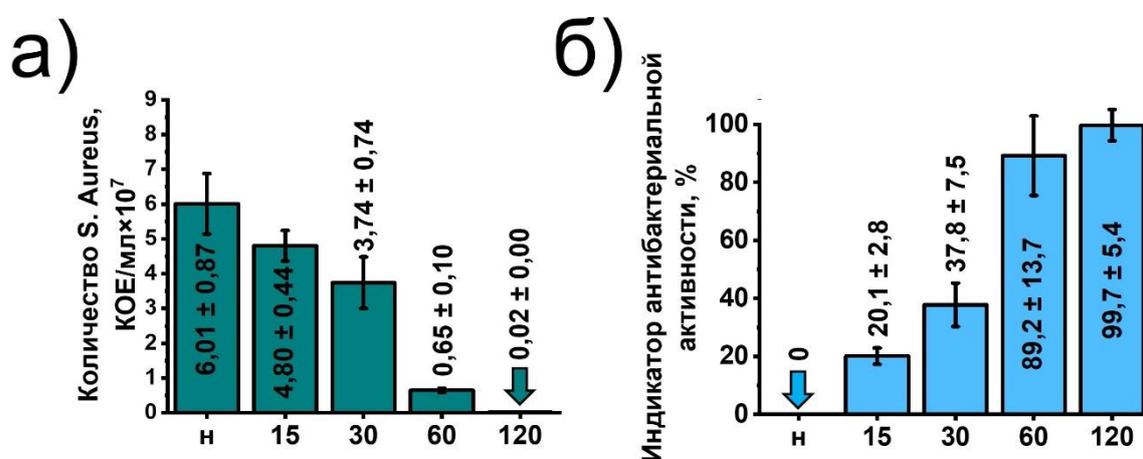


Рисунок 3.12 – Результаты исследования антибактериальных свойств немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) образцов:

а) количество выросших бактерий *S. Aureus* после их контакта с модифицированной поверхностью мембран, б) индикатор антибактериальной активности, указывающий на процент подавления численности бактерий

Немодифицированные ВДФ-ТеФЭ образцы не обладают антибактериальными свойствами, о чём свидетельствует индикатор антибактериальной активности, равный нулю (Рисунок 3.12б, н). ВДФ-ТеФЭ мембраны, модифицированные в течение 15, 30, 60 и 120 секунд, позволяют подавлять численность *S. Aureus* на 20,1 \pm 2,8 %, 37,8 \pm 7,5 %, 89,2 \pm 13,7 % и 99,7 \pm 5,4 %, соответственно (Рисунок 3.12б, 15, 30, 60 и 120).

Усиление антибактериальной активности с увеличением длительности модифицирования связано с несколькими факторами:

1) По результатам исследований элементного состава (раздел 3.3), концентрация меди, которая действует как антимикробный агент, увеличивается с увеличением длительности модифицирования.

2) С помощью метода рентгеноструктурного анализа (раздел 3.5) было показано, что при модифицировании мембран в течение 120 секунд появляется кристаллографический пик меди, который указывает на формирование металлической меди (Cu). Известно, что антибактериальная активность увеличивается в ряду $\text{Cu}_2\text{O} \rightarrow \text{CuO} \rightarrow \text{Cu}$ [193].

Поскольку модифицированные в течение 120 секунд ВДФ-ТеФЭ мембраны обладают наиболее выраженными антибактериальными свойствами, такие образцы были использованы в качестве объекта исследования регенеративных свойств *in vivo*.

3.9. Исследования регенеративных свойств ВДФ-ТеФЭ мембран *in vivo*

Эффективность использования нетканых ВДФ-ТеФЭ образцов в качестве медицинского изделия, предназначенного для регенерации слизистых оболочек полости рта, оценивалась *in vivo* на крысах линии Вистар.

На рисунке 3.13 представлены изображения гистологических срезов тканей, полученных из области раневого дефекта на третий и седьмой дни эксперимента. Окрашивание срезов происходило по гематоксилин-эозину. Изображения срезов были получены на оптическом микроскопе при увеличении $\times 400$.

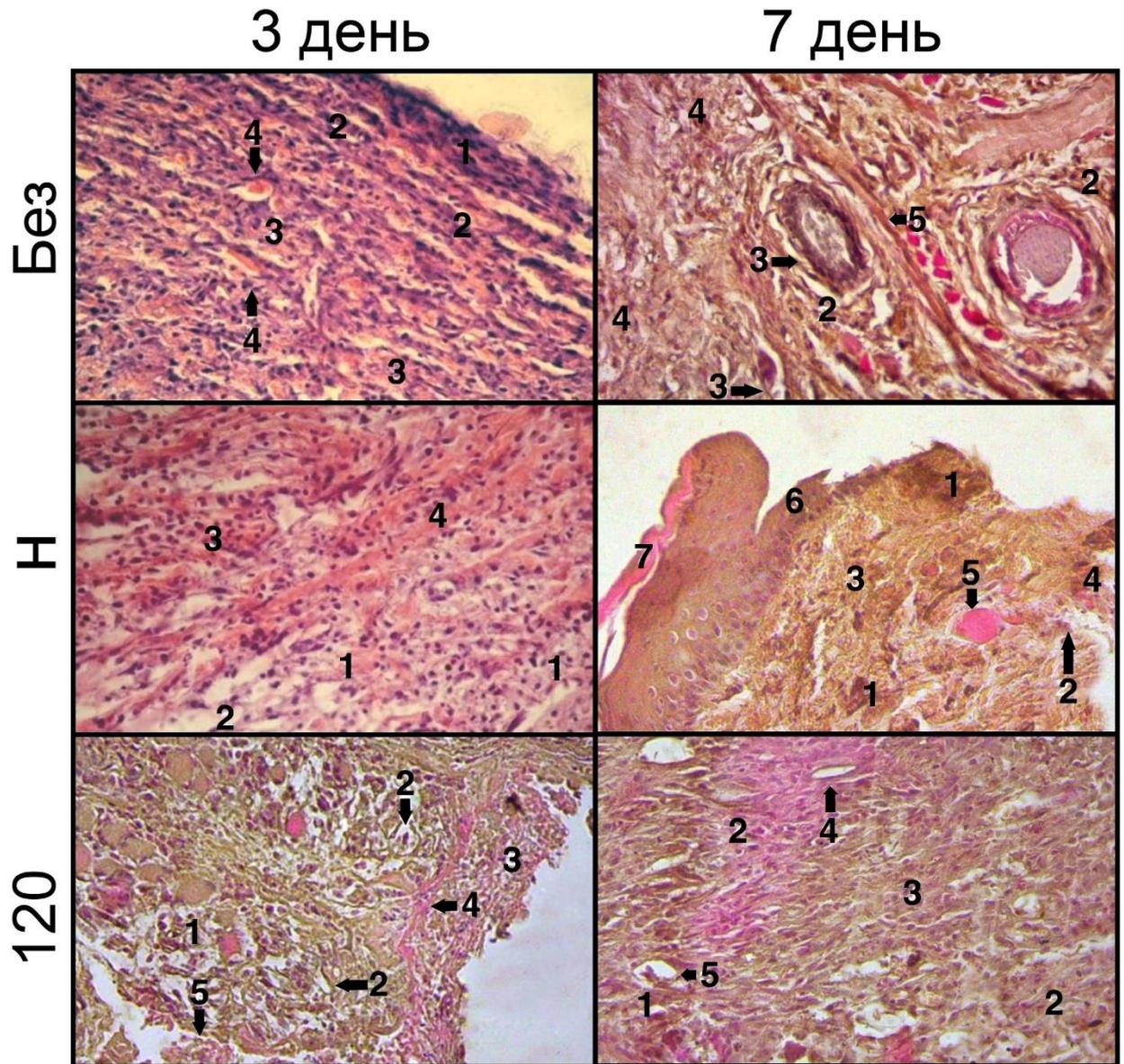


Рисунок 3.13 – Гистологические срезы тканей из областей раневых дефектов, не покрытых мембранами («Без»), покрытых немодифицированными мембранами («н») и покрытых модифицированными мембранами («120»), взятые на третий (слева) и седьмой (справа) дни эксперимента. Цифровые обозначения объяснены по тексту

Крысы были разделены по следующим группам: крысы с открытыми раневыми дефектами – «Без», крысы с раневыми дефектами, покрытыми немодифицированными мембранами – «н», крысы с раневыми дефектами, покрытыми мембранами, модифицированными в течение 120 секунд – «120» (Рисунок 3.13).

На гистологических срезах, взятых у группы крыс «Без» на 3-ий день (Рисунок 3.13, слева), наблюдается некроз тканей (1), лимфогистиоцитарная инфильтрация, напоминающая демаркационный вал (2), застой сосудов и отёк соединительной ткани по периферии, островки грануляционной ткани (3), сосуды, забитые тромбами с отёком по периферии (4). На гистологических срезах, взятых у групп крыс «н» и «120» на 3-ий день (Рисунок 3.13, слева), были заметны отдельные области некроза, большие участки грануляционной ткани (1), новообразованные сосуды (2) и лимфогистиоцитарная инфильтрация с отёком соединительной ткани (3). Более того, спорадически наблюдаются волокна коллагена (4), что может свидетельствовать об активном процессе регенерации раны. В области перифокального восстановления было замечено полнокровие и сосудистый стаз (5).

На гистологических срезах тканей (Рисунок 3.13, справа), собранных на 7-ой день с группы крыс «Без», наблюдаются отдельные очаги некроза (1), уменьшение лимфогистиоцитарной инфильтрации (2), сосуды с тромбами (3), активное развитие грануляционной ткани (4) и формирование отдельных пучков коллагеновых волокон (5). На гистологических срезах тканей, собранных у животных групп «н» и «120» на 7-ой день (Рисунок 3.13, справа), не наблюдается некроза, существенно уменьшается площадь лимфогистиоцитарной инфильтрации (1) и площадь грануляционной ткани (2). Также наблюдается активное формирование соединительной ткани (3), происходит процесс ангиогенеза (4), возникают одиночные тромбированные сосуды (5), происходит восстановление эпителиального слоя от периферии раны до её центра (6) и зон паракератоза (7).

На рисунке 3.14 представлены значения площадей раневой поверхности и площадей отдельных видов тканей в дефектах слизистой оболочки губ крыс, рассчитанных на третий и седьмой дни эксперимента.

3 день

7 день

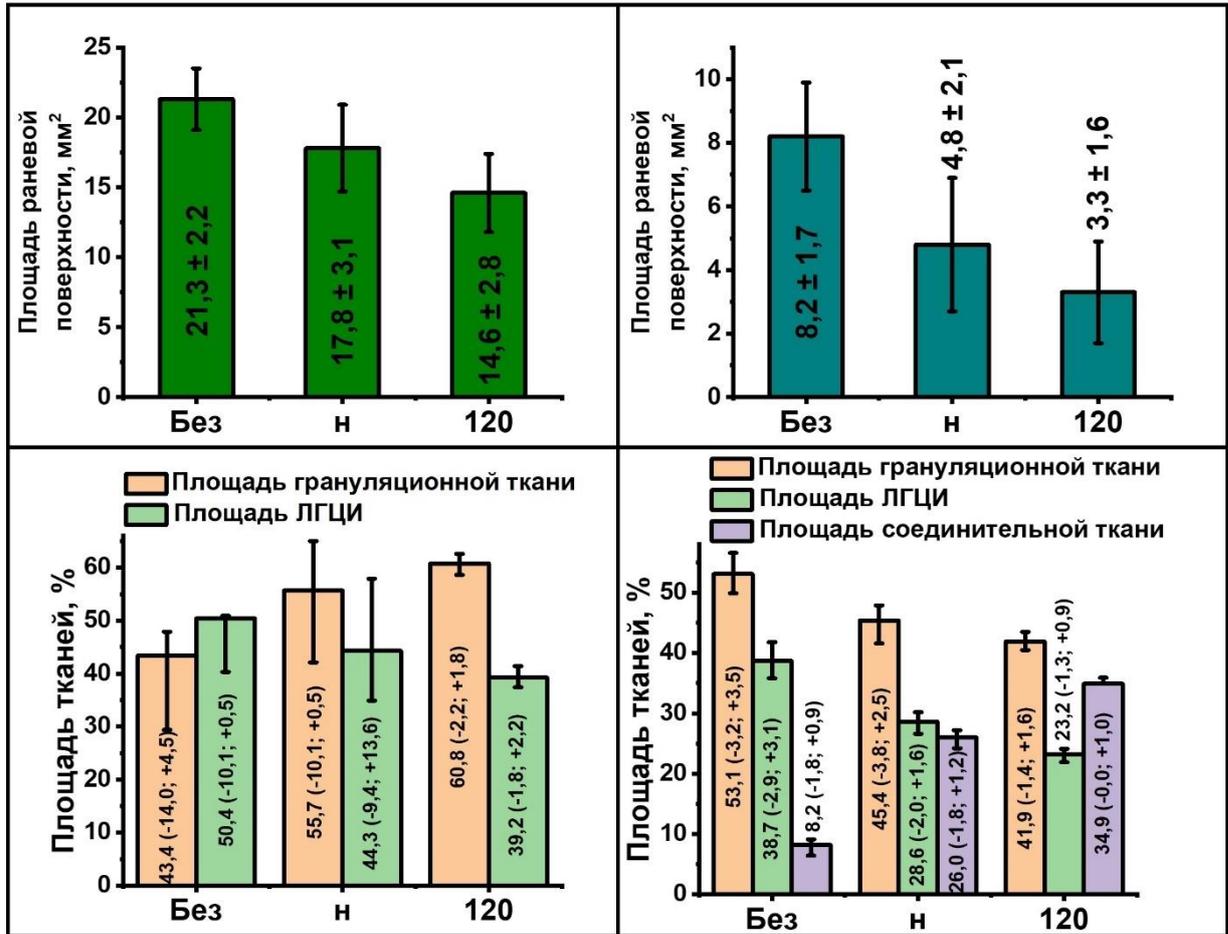


Рисунок 3.14 – Значения площадей раневой поверхности (сверху) и площадей отдельных видов тканей (снизу) в области дефектов исследуемых групп крыс («Без», «н» и «120»), рассчитанных на третий (слева) и седьмой (справа) дни эксперимента

На 3-ий день эксперимента у групп крыс «Без», «н» и «120» наблюдаются раны со средним значением площадей раневой поверхности $21,3 \pm 2,2$ мм², $17,8 \pm 3,1$ мм² и $14,6 \pm 2,8$ мм², соответственно (Рисунок 3.14, слева сверху). На 3-ий день у групп крыс «120» раневой дефект меньше в 1,2 и 1,5 раза, чем у групп крыс «н» и «Без», соответственно (Рисунок 3.14, сверху).

На 3-ий день соединительная ткань у всех групп не наблюдалась (Рисунок 3.14, слева снизу). На раневых поверхностях крыс группы «120» наблюдались грануляционная ткань и лимфогистиоцитарная инфильтрация с относительной площадью $60,8 (-2,2; +1,8)$ % и $39,2 (-1,8; +2,2)$ %, соответственно (Рисунок 3.14,

снизу слева). У группы крыс «н» значения относительных площадей грануляционной ткани и лимфогистиоцитарной инфильтрации составили 55,7 (-10,1; +0,5) % и 44,3 (-9,4; +13,6) %, соответственно (Рисунок 3.14, снизу слева). У группы крыс «Без» площадь грануляционной ткани и лимфогистиоцитарной инфильтрации составили 43,4 (-14,0; +4,5) % и 50,4 (-10,4; +0,5) %, соответственно (Рисунок 3.14, слева снизу).

На 7-ой день эксперимента у групп крыс «Без», «н» и «120» площади раневой поверхности составили $8,2 \pm 1,7 \text{ мм}^2$, $4,8 \pm 2,1 \text{ мм}^2$ и $3,3 \pm 1,6 \text{ мм}^2$, соответственно (Рисунок 3.14, справа сверху). На 7-ой день площадь раневого дефекта у крыс групп «Без», «н» и «120» в среднем уменьшилась в 2,6, 3,7 и 4,4 раза, соответственно, по сравнению с площадью дефектов на 3-ий день эксперимента (Рисунок 3.14, сверху). На 7-ой день эксперимента у крыс «120» площадь раневой поверхности оказалась меньше в 1,5 и 2,5 раза, чем у крыс «н» и «Без», соответственно (Рисунок 3.14, справа сверху).

На 7-ой день у всех групп наблюдалось формирование соединительной ткани (Рисунок 3.14, справа снизу). Самое большое количество соединительной ткани было у группы крыс «120» – 34,9 (-0,0; +1,0) %. У группы крыс «н» количество соединительной ткани было 26,0 (-1,8; +1,2) %. Наименьшее количество соединительной ткани было замечено у группы «Без» – 8,2 (-1,8; +0,9) % (Рисунок 3.14, справа снизу).

В эксперименте *in vivo* на 3-и и 7-е сутки было показано, что закрытие раневых дефектов ВДФ-ТеФЭ мембранами (группа крыс «н» и «120») ускоряет процесс регенерации ран. Увеличение скорости регенерации ран при их закрытии мембранами может быть связано с тем, что они защищают раневой дефект от механических повреждений. Более того, благодаря гидрофобным свойствам ВДФ-ТеФЭ, снижается риск заражения раневых поверхностей патогенными микроорганизмами. В работе [194] было показано, что при механическом растяжении/сжатии скаффолда с пьезоэлектрическими свойствами у фибробластов линии NIH/3T3, осаждённых на поверхности этого материала, усиливается

миграция, адгезия и уровень секреции цитокинов. Таким образом, пьезоэлектрические свойства позволяют стимулировать процесс заживления ран.

Однако, как на 3-ий, так и на 7-ой день эксперимента регенерация тканей проходила наиболее быстро у крыс, дефект которых был покрыт модифицированными мембранами (120). Таким образом, несмотря на то, что медьсодержащие плёнки цитотоксичны и негативно влияют на жизнедеятельность клеток [195, 196], ВДФ-ТеФЭ образцы с тонкими плёнками меди (120) обладают наилучшим регенеративным эффектом. Полученный результат можно объяснить следующим:

1. Раневая поверхность крыс контактирует с немодифицированной гидрофобной стороной мембран «120». Более того, при общей толщине ВДФ-ТеФЭ мембран около 200 мкм медь проникает в их объём на глубину порядка 25 мкм. Следовательно, между раневой поверхностью и обогащённым медью поверхностным слоем мембран отсутствует прямой контакт.

2. Гидрофобная поверхность ВДФ-ТеФЭ мембран ограничивает диффузию жидкости и растворенных в ней веществ от раневой поверхности к модифицированной стороне, так и от модифицированной стороны к раневому дефекту. Таким образом, основная концентрация токсичных ионов меди, при закреплении мембран на слизистую оболочку губы крыс, остаётся на модифицированной стороне.

3. На модифицированной стороне мембран патогенная микрофлора гибнет в результате процесса её контактного взаимодействия с медью [197], что ограничивает проникновение патогенов в зону раневого эффекта, снижая вероятность возникновения воспаления.

4. Растворение медного покрытия в слюне обогащает ротовую полость ионами меди [198], что снижает общий уровень патогенной контаминации полости рта.

Таким образом, ВДФ-ТеФЭ мембраны с тонкой медной плёнкой, полученной методом магнетронного распыления, обладают высоким регенеративным

потенциалом благодаря наличию у них гидрофобной поверхности и высокой антибактериальной активности.

3.10. Выводы по третьей главе

Методом электроспиннинга были сформированы полимерные мембраны на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом. ВДФ-ТеФЭ мембраны были модифицированы медью методом магнетронного распыления. Результаты, полученные при исследовании разработанных ВДФ-ТеФЭ мембран, были внедрены в научную деятельность ФГБОУ ВО «Сибирский Государственный университет», акт внедрения приведен в Приложении А. На основании результатов анализа физико-химических, антибактериальных и биосовместимых свойств можно сделать следующие выводы:

1. На СЭМ изображениях, снятых при увеличении $\times 1000$, было показано, что немодифицированные и модифицированные ВДФ-ТеФЭ мембраны состоят из хаотично переплетённых волокон различных диаметров. На модифицированных образцах не наблюдается проплавлений и прожогов. Немодифицированные и модифицированные ВДФ-ТеФЭ мембраны обладают средним диаметром волокон $(0,78 \div 0,88) \pm 0,38$ мкм. Плазменное модифицирование медью при выбранных режимах достоверно не влияет на морфологию и средний диаметр волокон нетканых ВДФ-ТеФЭ материалов.

2. Поверхность отдельных волокон исследовалась СЭМ при увеличении $\times 60000$. У немодифицированных образцов наблюдается гладкая поверхность волокон. С увеличением длительности модифицирования поверхность волокон становится более шероховатой, что объясняется ростом медной плёнки по трёхмерному островковому механизму (модель Вольмера – Вебера).

3. При исследовании элементного состава ВДФ-ТеФЭ мембран методом ЭДРС было показано, что немодифицированные ВДФ-ТеФЭ образцы (н) преимущественно состоят из углерода (С) и фтора (F) с соотношением $F/C = 0,74$. У мембран «120» содержание меди в $\sim 11,8$ раз больше, чем у «15». С увеличением длительности модифицирования с 15 до 120 секунд процентная концентрация

кислорода увеличивается в $\sim 2,3$ раза. При этом после плазменного модифицирования процентное соотношение фтора к углероду практически не изменяется ($F/C = 0,73 \div 0,80$).

4. На обзорных РФЭС спектрах ВДФ-ТеФЭ мембран до их обработки пучком ионов отмечено, что соотношение меди к кислороду практически не зависит от длительности модифицирования ($Cu/O = 0,85 \div 0,96$). После плазменного модифицирования мембран медью соотношение F/C существенно уменьшается в $\sim 2,4 \div 3,5$ раза.

5. Установлено, что максимальная глубина проникновения меди внутрь ВДФ-ТеФЭ мембран при их модифицировании в течение $15 \div 120$ секунд варьируется в диапазоне $\sim 6 - 10$ % от их общей толщины ($15 \div 25$ мкм).

6. Немодифицированные и модифицированные ВДФ-ТеФЭ мембраны обладают кристаллической β -фазой. При длительности модифицирования 120 секунд на угле сканирования $43,3^\circ$ наблюдается низкоинтенсивный пик металлической меди Cu с кристаллографической плоскостью (111). Появление пика Cu (111) указывает на то, что с увеличением длительности модифицирования на поверхности волокон ВДФ-ТеФЭ толщина медной пленки увеличивается.

7. Значения краевых углов смачивания водой и глицерином для немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран достоверно не отличаются и находятся в диапазоне: для воды $\sim (125 \div 130) \pm 6^\circ$, для глицерина $\sim (128 \div 133) \pm 7^\circ$.

8. Предел прочности и максимальное удлинение при разрыве у немодифицированных и модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран варьируются в пределах $(10,7 \div 13,7) \pm 2,7$ МПа и $(238 \div 260) \pm 16$ %, соответственно. Процесс модифицирования при выбранных режимах достоверно не влияет на механические свойства мембран.

9. Немодифицированные образцы не обладают антибактериальными свойствами. Количество золотистого стафилококка на поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных в течение 60 и 120 секунд, уменьшается на 89,2 % и

на 99,7 %, соответственно. С увеличением длительности модифицирования антибактериальные свойства мембран усиливаются, что, в первую очередь, связано с ростом концентрации меди на них.

10. На 7-ой день эксперимента *in vivo* у крыс группы без ВДФ-ТеФЭ площадь раневого дефекта составляла $8,2 \pm 1,7$ мм². При использовании немодифицированных мембран площадь дефекта составляла $4,8 \pm 2,1$ мм². Площадь дефекта у крыс группы с модифицированными в течение 120 секунд ВДФ-ТеФЭ образцами составляла $3,3 \pm 1,6$ мм². Следовательно, регенерация тканей наиболее активно происходит у крыс, раневой дефект которых был закрыт модифицированными в течение 120 секунд ВДФ-ТеФЭ мембранами.

ГЛАВА 4. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные и биологические свойства ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом магнетронного распыления титана

4.1. Внешний вид ПЛГА скаффолдов

На рисунке 4.1 представлены фотографии обеих сторон (верх, низ) немодифицированных и модифицированных титаном нетканых скаффолдов на основе поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА).

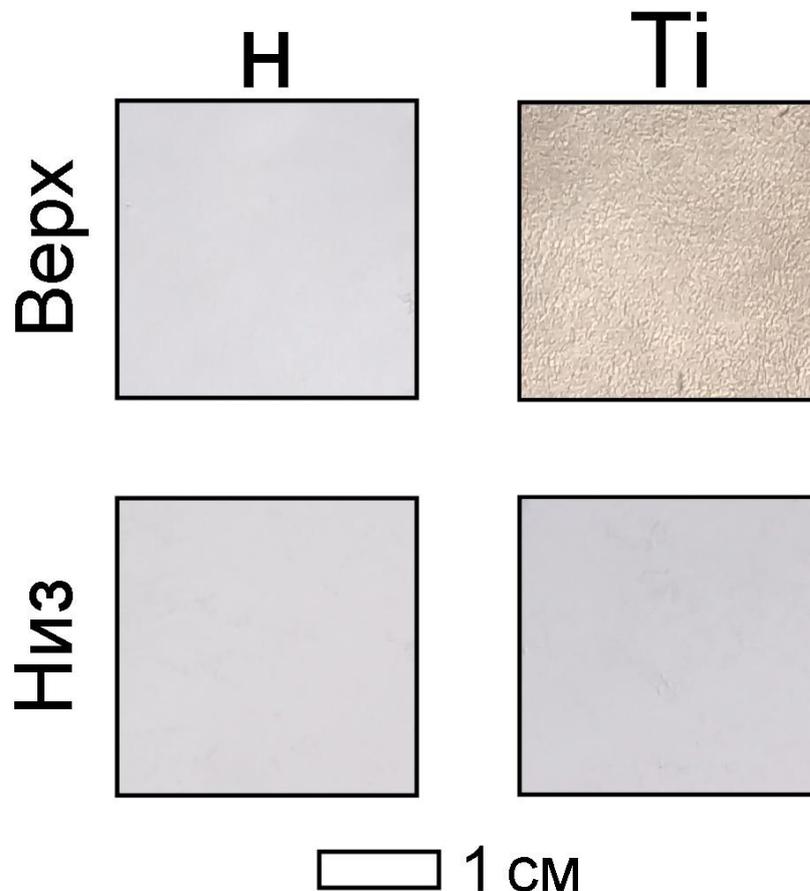


Рисунок 4.1 – Изображения немодифицированных (n) и модифицированных (Ti) ПЛГА скаффолдов. Верх – модифицированная сторона, Низ – немодифицированная сторона

Немодифицированные скаффолды обладают белым цветом с обеих сторон (Рисунок 4.1). Модифицированная сторона скаффолдов (Верх) имеет серый цвет и металлический блеск. Немодифицированная сторона скаффолдов (Низ) сохраняет свой первоначально белый цвет (Рисунок 4.1). Это свидетельствует о том, что

метод магнетронного распыления позволяет модифицировать приповерхностные слои полимерных ПЛГА скаффолдов, в то время как обратная сторона остаётся неизменённой.

4.2. Морфология поверхности ПЛГА скаффолдов

На рисунке 4.2 представлены СЭМ изображения немодифицированных и модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов при увеличении $\times 1000$ и гистограммы распределения диаметров волокон и площадей пор.

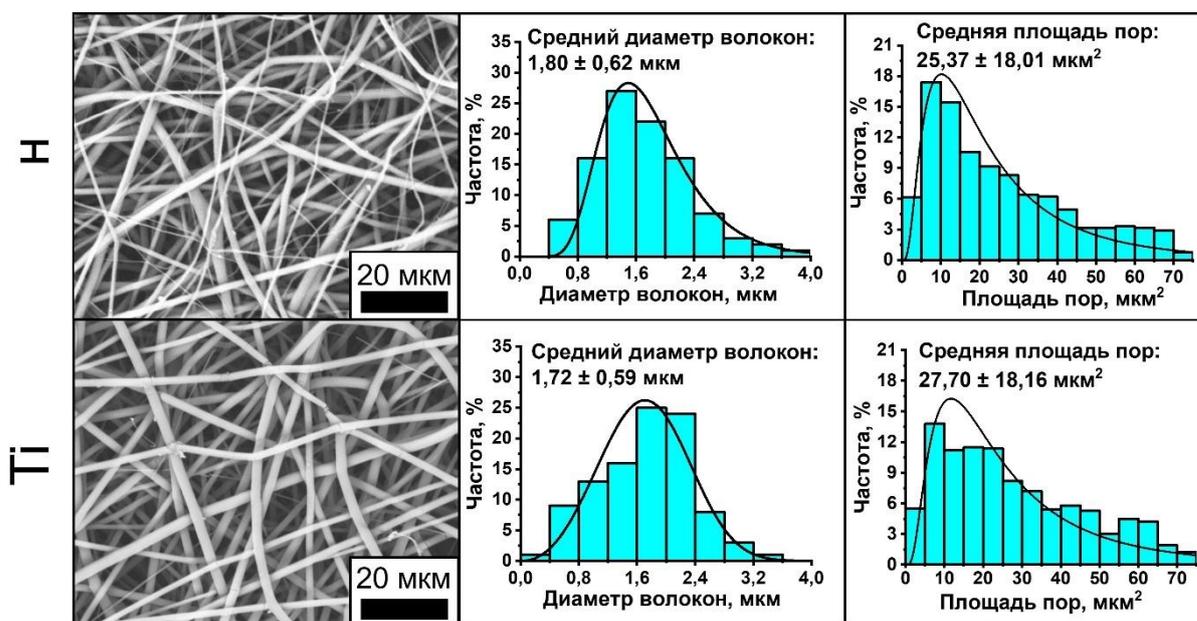


Рисунок 4.2 – СЭМ изображения немодифицированных (H) и модифицированных титаном (Ti) нетканых ПЛГА скаффолдов при увеличении $\times 1000$ (левый столбец), гистограммы распределения диаметров их волокон (посередине) и гистограммы распределения площадей пор (правый столбец)

Немодифицированные и модифицированные титаном ПЛГА скаффолды состоят из хаотично переплетённых волокон (Рисунок 4.2, слева). Плазменное модифицирование позволяет сохранить первоначальную нетканую морфологию скаффолдов. Средний диаметр волокон у немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов варьируется в диапазоне $(1,72 \div 1,80) \pm 0,62$ мкм (Рисунок 4.2, посередине). Средняя площадь пор у немодифицированных и модифицированных образцов варьируется в диапазоне $(25,47 \div 27,70) \pm 18,16$ мкм²

(Рисунок 4.2, справа). Плазменное модифицирование титаном достоверно не влияет на средний диаметр волокон и площадь пор нетканых ПЛГА материалов.

На рисунке 4.3 представлены АСМ изображения и значения среднеквадратичной шероховатости, полученные при сканировании поверхности ПЛГА образцов площадью 40×40 мкм².

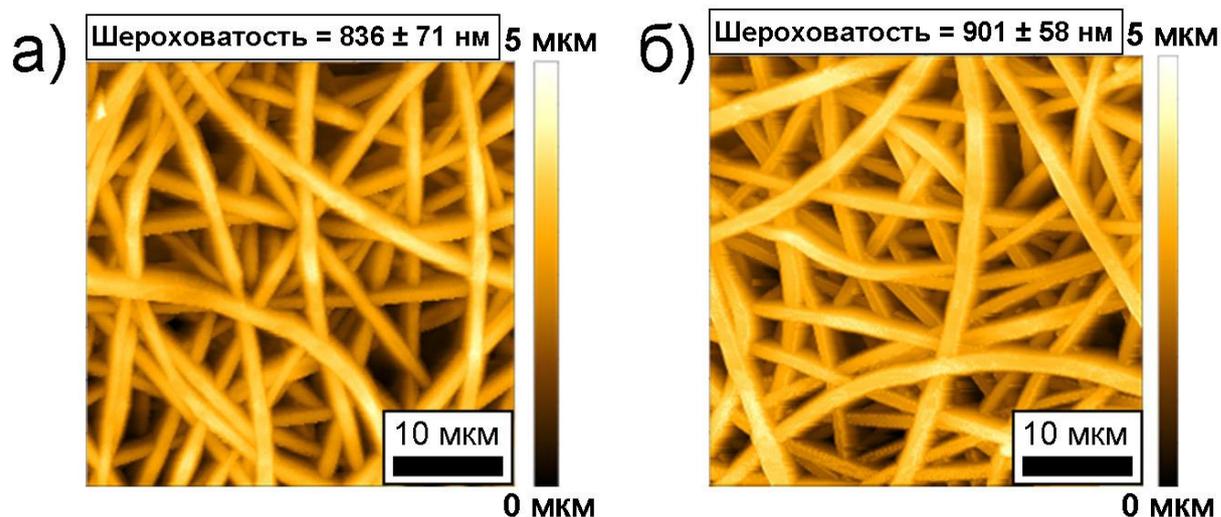


Рисунок 4.3 – АСМ изображения и значения среднеквадратичной шероховатости немодифицированных (н) и модифицированных титаном (Ti) ПЛГА скаффолдов, полученных при сканировании поверхности площадью 40×40 мкм²: а) н, б) Ti

Поверхность немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов имеет волокнистую структуру (Рисунок 4.3), что подтверждается результатами, полученными с помощью метода сканирующей электронной микроскопии. Шероховатость немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов составляет 836 ± 71 нм и 901 ± 58 нм, соответственно (Рисунок 4.3а и 4.3б). Плазменное модифицирование титаном при выбранных режимах достоверно не влияет на шероховатость ПЛГА скаффолдов.

4.3. Элементный и химический составы ПЛГА скаффолдов

На рисунке 4.4 представлены спектры, полученные методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС), немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов.

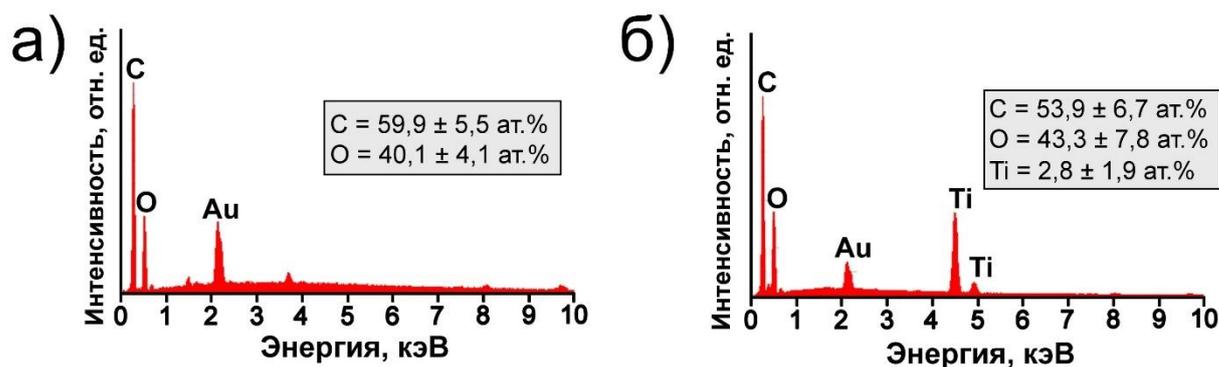


Рисунок 4.4 – ЭДРС спектры немодифицированных (н) и модифицированных титаном (Ti) ПЛГА скаффолдов: а) н, б) Ti. Концентрации элементов на спектрах отображены в атомных процентах (ат. %)

На ЭДРС спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов помимо пика золота (Au) наблюдаются пики углерода ($C = 59,9 \pm 5,5$ ат. %) и кислорода ($O = 40,1 \pm 4,1$ ат. %) (Рисунок 4.4а). Пики золота не были включены в элементный состав скаффолдов, поскольку оно было нанесено на их поверхность для рассеивания заряда при СЭМ. На ЭДРС спектре модифицированных ПЛГА скаффолдов наблюдаются пики углерода ($C = 53,9 \pm 6,7$ ат. %), кислорода ($O = 43,3 \pm 7,8$ ат. %) и титана ($Ti = 2,8 \pm 1,9$ ат. %) (Рисунок 4.4б). Увеличение концентрации кислорода после модифицирования ПЛГА скаффолдов титаном может быть связано с несколькими факторами:

1) Поглощение кислорода из атмосферы скаффолдами химически активной поверхностью, которая возникает после их плазменного модифицирования [199, 200].

2) При нормальных условиях титан активно взаимодействует с кислородом и формирует оксидную плёнку толщиной ~ 8 нм [201].

На рисунке 4.5 приведены обзорные спектры немодифицированных и модифицированных образцов до и после их обработки пучком ионов аргона. Спектры получали методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС).

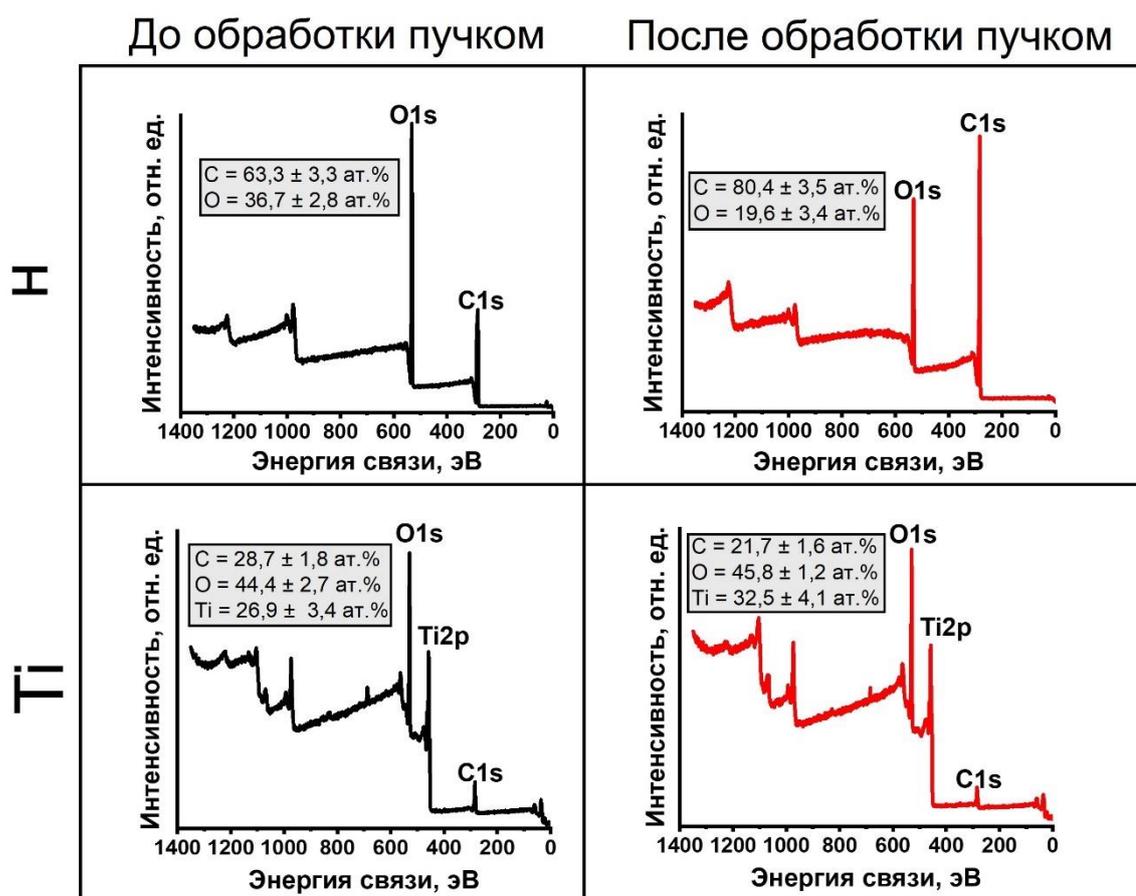


Рисунок 4.5 – Обзорные РФЭС спектры немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) скаффолдов до (слева) и после (справа) их обработки пучком ионов аргона. Концентрации элементов на спектрах представлены в атомных процентах (ат. %)

На немодифицированных PLLGA скаффолдах до их обработки пучком ионов можно наблюдать пики углерода ($C = 63,3 \pm 3,3$ ат. %) и кислорода ($O = 36,7 \pm 2,8$ ат. %) (Рисунок 4.5, слева, н). На обзорном РФЭС спектре модифицированных PLLGA скаффолдов до обработки пучком ионов наблюдаются пики углерода ($C = 28,7 \pm 1,8$ ат. %), кислорода ($O = 44,4 \pm 2,7$ ат. %) и титана ($Ti = 26,9 \pm 3,4$ ат. %) (Рисунок 4.5, слева, Ti).

После обработки пучком концентрация углерода на полимерных образцах увеличивается в 1,3 раза, а концентрация кислорода уменьшается в 1,9 раз (Рисунок 4.5, справа, н). При этом после обработки пучком ионов аргона модифицированных титаном PLLGA скаффолдов концентрация углерода уменьшается в 1,3 раза,

концентрация кислорода практически не изменяется, а концентрация титана увеличивается в 1,2 раза (Рисунок 4.5, справа, Ti).

Уменьшение углерода у модифицированных образцов и увеличение концентрации титана после их обработки пучком ионов указывает на то, что часть углерода находится непосредственно на поверхности модифицированных скаффолдов. Такой углеродный слой может возникнуть в результате углеродной контаминации поверхности модифицированных скаффолдов, а уменьшение концентрации углерода после обработки пучком связано с процессом удаления углеродных загрязнений с поверхности образцов.

На рисунке 4.6 отображены спектры немодифицированных и модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов, полученных с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния.

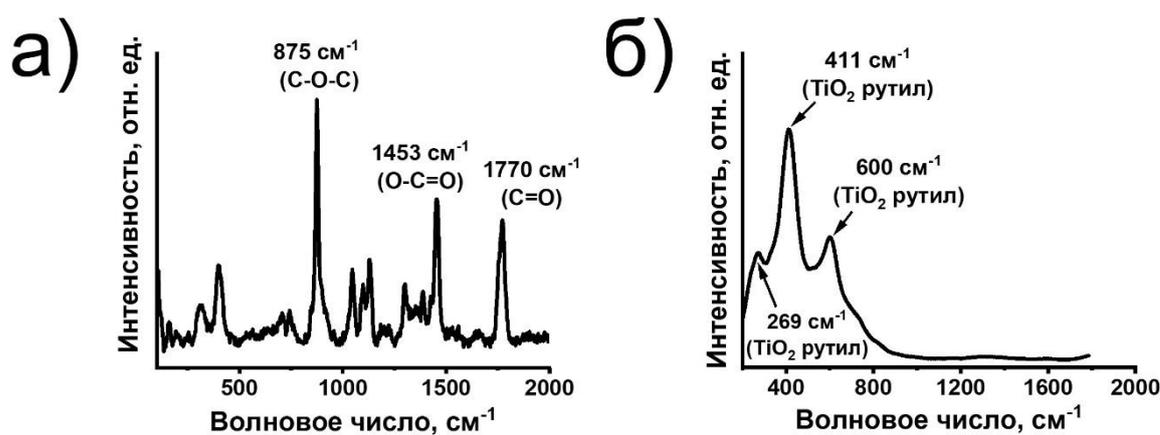


Рисунок 4.6 – Рамановские спектры немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) скаффолдов: а) н, б) Ti

На рамановском спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов можно заметить три высокоинтенсивных пика на значениях 875 см^{-1} , 1453 см^{-1} и 1770 см^{-1} , которые указывают на химические связи C–O–C, O–C=O и C=O, соответственно (Рисунок 4.6а) [202]. Расположение и интенсивность таких пиков характерна для ПЛГА скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга [202]. После модифицирования титаном на рамановском спектре модифицированных ПЛГА образцов наблюдаются три широких пика 269 см^{-1} , 411 см^{-1} и 600 см^{-1} , которые указывают на структуру TiO_2 рутила (Рисунок 4.5б). Широкая форма пиков

указывает на то, что после модифицирования на поверхности PLLGA скаффолдов формируется тонкая плёнка из аморфного TiO_2 рутила.

На рисунке 4.7 показаны РФЭС спектры валентной зоны в областях $\text{C}1s$, $\text{O}1s$ и $\text{Ti}2p$ немодифицированных и модифицированных PLLGA скаффолдов.

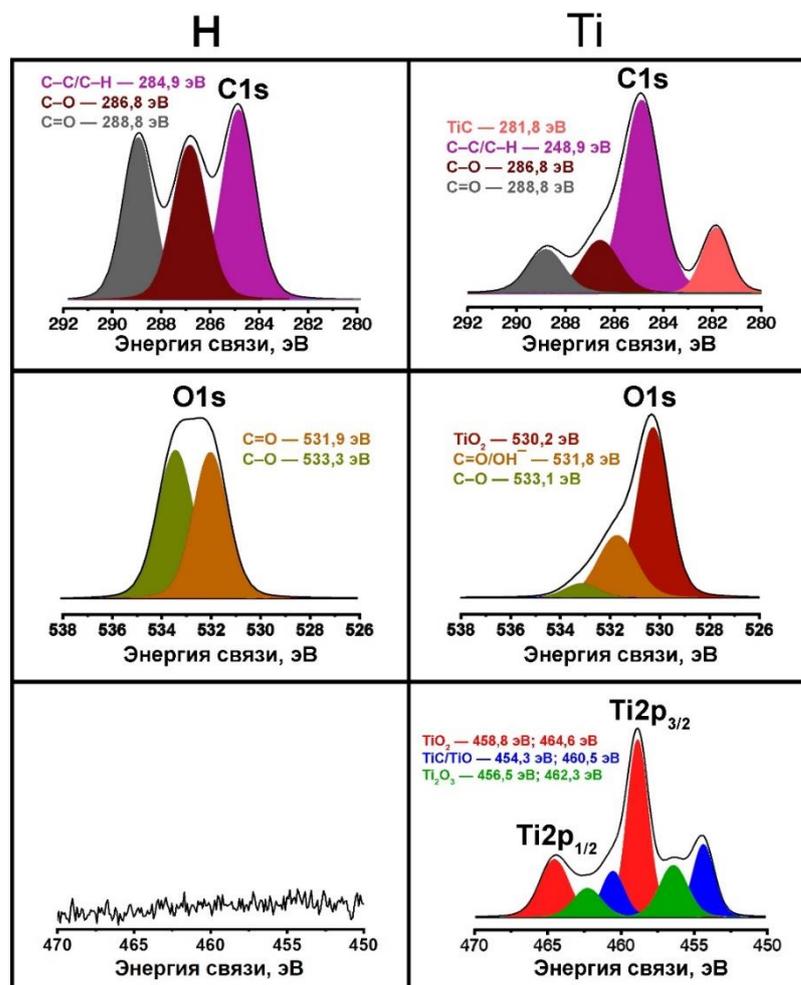


Рисунок 4.7 – Спектры валентной зоны в областях $\text{C}1s$, $\text{O}1s$ и $\text{Ti}2p$ для немодифицированных (n) и модифицированных (Ti) PLLGA скаффолдов

Следует отметить, что на $\text{C}1s$ спектрах модифицированных титаном образцов помимо углерода, указывающего на химические связи полимеров PLLGA, наблюдаются углеродные загрязнения. Это вытекает из анализа обзорных спектров образцов «Ti» (Рисунок 4.5).

На $\text{C}1s$ спектре «n» скаффолдов можно выявить три отчётливых пика (Рисунок 4.7, n, $\text{C}1s$). Фиолетовый пик с максимумом при 284,9 эВ указывает на химические соединения C-C/C-H [203]. Багровый пик с максимумом при 286,8 эВ

указывает на связи C–O [93]. Серый пик с максимумом при 288,8 эВ указывает на C=O [93].

После деконволюции C1s спектра модифицированных ПЛГА скаффолдов можно определить четыре компонента (Рисунок 4.7, Ti, C1s), три из которых уже наблюдались у контрольных скаффолдов «н». Эти три компонента с максимумами в точках 284,9 эВ, 286,6 эВ и 288,8 эВ указывают на химические соединения C–C/C–H, C–O и C=O, соответственно. Четвёртая красно-розовая компонента с максимумом в точке 281,8 эВ указывает на формирование соединения TiC [204].

Существенное снижение интенсивности C–O, C=O компонент после плазменного модифицирования ПЛГА скаффолдов может быть связано с их расщеплением [205]. Более того, существенное уменьшение химических связей C–O и C=O на C1s спектре «Ti» скаффолдов может подтверждать наличие на них углеродных загрязнений.

На O1s спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов можно заметить две компоненты с максимумами в точках 531,9 эВ (отмечена жёлто-коричневым) и 533,3 эВ (отмечена болотным) (Рисунок 4.7, н, O1s). Жёлто-коричневая компонента указывает на функциональные группы C=O, а компонента с болотным цветом указывает на связи C–O [93].

На O1s спектре «Ti» скаффолдов можно наблюдать три компонента, две из которых уже наблюдались у немодифицированных образцов на энергиях связи 531,8 эВ и 533,1 эВ, которые указывают на химические соединения C=O и C–O, соответственно (Рисунок 4.7, O1s, Ti). Также компонента с максимумом в точке 531,8 эВ может указывать на гидроксильные группы OH^- , наличие которых свидетельствует о формировании органических загрязнений [206]. Высокоинтенсивный багровый пик, соответствующий энергии связи 530,2 эВ (Рисунок 4.7, O1s, Ti), указывает на наличие химических соединений TiO_2 [207, 208].

Высокая интенсивность соединений TiO_2 на O1s спектрах модифицированных образцов указывает на активное взаимодействие титана с кислородом и на формирование тонкой плёнки из оксида титана.

На Ti2p спектрах «Ti» скаффолдов можно заметить шесть компонент. Две высокоинтенсивные красные компоненты с максимумами в точках 458,8 эВ и 464,6 эВ указывают на соединения TiO₂ [209–211] (Рисунок 4.7, Ti, Ti2p). Две синие компоненты с максимумами на значениях 454,3 эВ и 460,5 эВ свидетельствуют о формировании химических связей TiC/TiO [209–211]. Две зелёные компоненты на значениях 456,5 эВ и 462,3 эВ характеризуют соединения Ti₂O₃ [210].

Появление различных компонент из оксида титана (TiO, TiO₂ и Ti₂O₃) связано со взаимодействием химически активной модифицированной поверхностью PLLGA скаффолдов с кислородом [212], который в малых концентрациях присутствует в камере вакуумной ионно-плазменной установки и в окружающем воздухе. Более того, появление таких кислородсодержащих титановых компонент может указывать на формирование многослойных пленок из оксидов титана на поверхности волокон полимерных скаффолдов [201].

4.4. Смачиваемость PLLGA скаффолдов

На рисунке 4.8 представлены фотографии капель воды и соответствующие значения краевых углов смачивания немодифицированных и модифицированных PLLGA скаффолдов.

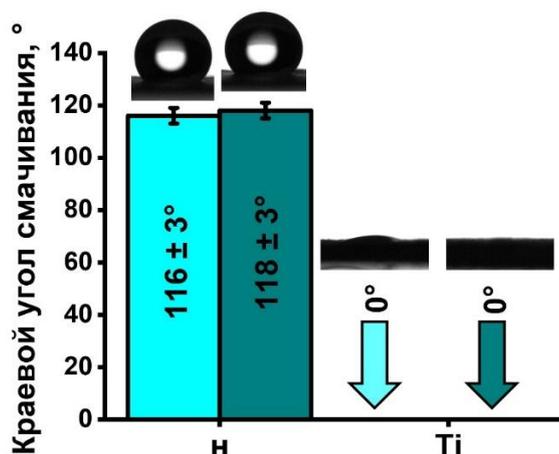


Рисунок 4.8 – Фотографии капель воды и значения краевых углов смачивания через 2 секунды (отмечены голубым) и 1 минуту (отмечены темно-зелёным) после взаимодействия капель воды с поверхностью немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) скаффолдов

Через 2 секунды и 1 минуту после взаимодействия капле воды с поверхностью немодифицированных PLLGA скаффолдов краевые углы смачивания были равны $116 \pm 3^\circ$ и $118 \pm 3^\circ$, соответственно (Рисунок 4.8, н). Немодифицированные полимерные скаффолды обладают гидрофобными свойствами. Через 2 секунды и 1 минуту после взаимодействия капле воды с поверхностью модифицированных PLLGA скаффолдов краевые углы смачивания в обоих случаях снижаются до 0° (Рисунок 4.8, Тi). Как для 2 секунд, так и для 1 минуты капли воды впитывались поверхностью PLLGA скаффолдов (Рисунок 4.8, Тi). Это указывает на наличие гидрофильных и сорбирующих свойств у модифицированной поверхности нетканых PLLGA материалов.

Гидрофильные и сорбирующие свойства, возникающие после модифицирования поверхности PLLGA скаффолдов, обусловлены наличием соединений TiO_x . Известно, что тонкие плёнки TiO_x , сформированные методом магнетронного распыления, обладают гидрофильными свойствами [213]. Более того, TiO_2 может приводить к возникновению гидроксильных групп ($-OH-$), которые способствуют образованию водородных связей между TiO_2 и водой, что в свою очередь, усиливает эффект смачивания [214].

4.5. Механические свойства PLLGA скаффолдов

На рисунке 4.9 представлены результаты механических свойств немодифицированных и модифицированных титаном PLLGA скаффолдов.

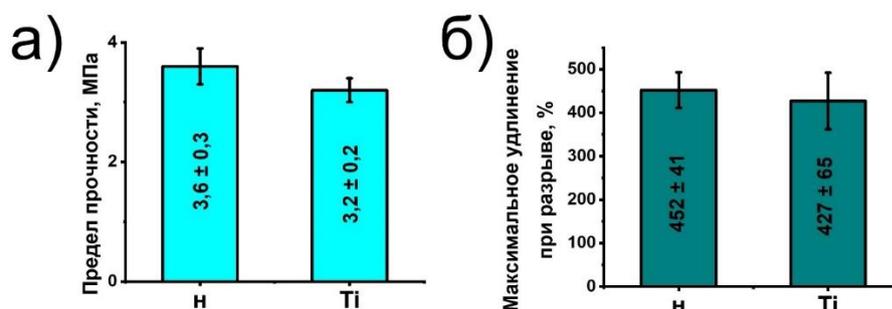


Рисунок 4.9 – Механические свойства немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) PLLGA скаффолдов: а) предел прочности; в) максимальное удлинение при разрыве

Значения предела прочности (Рисунок 4.9а) и максимального удлинения при разрыве (Рисунок 4.9б) для образцов «н» и «Тi» варьируются в диапазоне $(3,2 \div 3,6) \pm 0,3$ МПа и $(427 \div 452) \pm 65$ %, соответственно.

Модифицирование ПЛГА скаффолдов методом магнетронного распыления титановой мишени позволяет сохранить их первоначальные механические свойства, что указывает на правильно подобранный режим модифицирования (Таблица 2.6). Сохранение первоначальных механических характеристик связано с тем, что при нанесении титановых тонких плёнок методом магнетронного распыления модифицируются только приповерхностные слои, в то время как полимерные волокна, находящиеся в глубине скаффолдов, остаются нетронутыми (раздел 3.4) [215].

4.6. Термогравиметрический анализ ПЛГА скаффолдов

Результаты термогравиметрии (ТГ) и дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) немодифицированных и модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов приведены на рисунке 4.10.

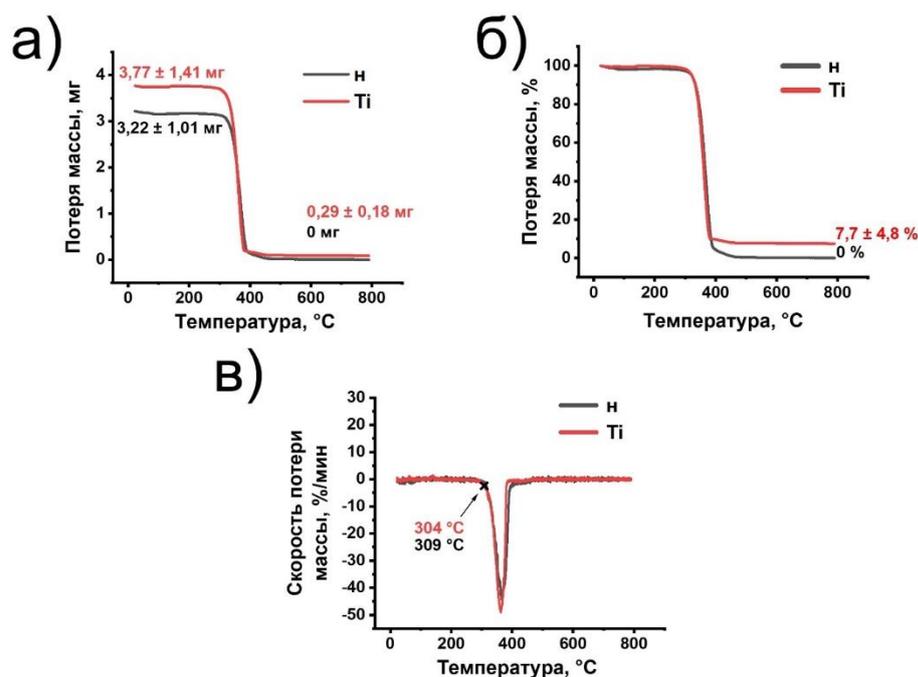


Рисунок 4.10 – ТГ и ДТГ кривые немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) скаффолдов: а) ТГ кривые (масса – миллиграмм); б) ТГ кривые (масса – %); в) ДТГ кривые

Перед ТГА анализом массы образцов «н» и «Ti» составляли $3,22 \pm 1,01$ мг и $3,77 \pm 1,41$ мг, соответственно (Рисунок 4.10, а). Значение остаточной массы для немодифицированных титаном PLLGA скаффолдов составило 0 мг, это указывает на то, что при ТГ исследовании полимерные скаффолды сгорели в воздушной атмосфере без остатка (Рисунок 4.10а). Остаточная масса модифицированного PLLGA скаффолда после его термического разложения составила $0,29 \pm 0,18$ мг (Рисунок 4.10а), что указывает на содержание титана около $7,7 \pm 4,8$ мас. % (Рисунок 4.10б). Температуры термического разложения составляют 304 °С для немодифицированных и 308 °С для модифицированных PLLGA скаффолдов (Рисунок 4.10в). Процесс модифицирования практически не влияет на температуру термического разложения образцов PLLGA.

4.7. Биологические свойства PLLGA скаффолдов

На рисунке 4.11 для немодифицированных и модифицированных PLLGA скаффолдов представлены микрофотографии СЭМ фибробластов десны человека и их оптической флуоресценции.

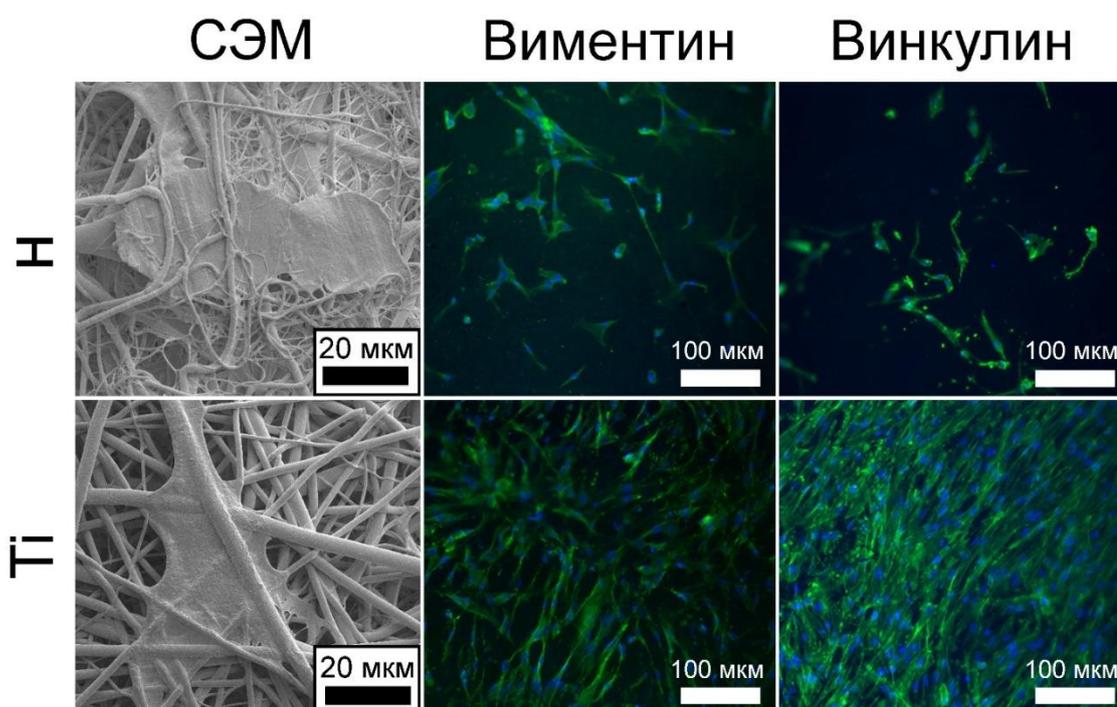


Рисунок 4.11 – СЭМ микрофотографии фибробластов десны человека (слева) и микрофотографии оптической флуоресценции по виментину (посередине) и по винкулину (справа) на поверхности немодифицированных (н) и

модифицированных (Ti) скаффолдов после 48 часов культивирования. Под светом флуоресцентной лампы ядра клеток кажутся синими из-за окрашивания ДАФИ (4',6-диамидино-2-фенилиндол), а цитоплазма клеток выглядит зелёной из-за мечения антител виментином (посередине) и винкулином (справа) и окрашиванием флуоресцентным красителем Alexa488 (подробнее описано в разделе 2.4.2)

Как показано на СЭМ микрофотографиях (Рисунок 4.11, слева), фибробласты десны человека свободно распространяются по поверхности скаффолдов групп «н» и «Ti». Модифицирование титаном существенно увеличивает адгезию клеток к полимерным ПЛГА скаффолдам (Рисунок 4.11, посередине и справа). Фибробласты, выращенные на поверхности модифицированных образцов, показали хороший уровень распространения по поверхности, более того, у них активно формировались организованные актиновые нити.

На рисунке 4.12 отображена численность фибробластов десны человека на поверхности немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов, посчитанная по оптическим флуоресцентным микрофотографиям (Рисунок 4.11).

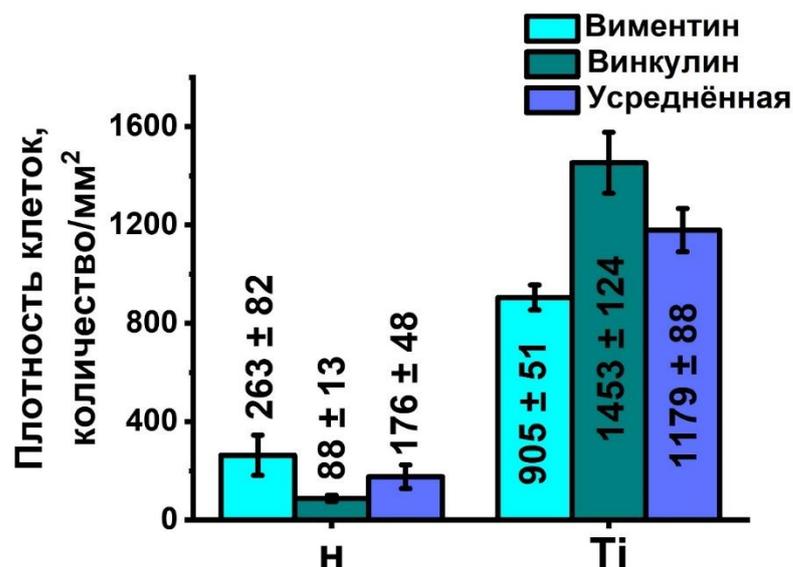


Рисунок 4.12 – Количество клеток на мм² (клеток/мм²) на поверхности скаффолдов «н» и «Ti» по виментину (зелёно-голубые), по винкулину (тёмно-зелёные) и усреднённая плотность клеток (синие)

Усреднённая плотность клеток для каждой группы образцов («н» и «Ti») рассчитывалась в соответствии с формулой:

$$\text{УПК} = \frac{\text{ПК}_{\text{вим}} + \text{ПК}_{\text{вин}}}{2}, \quad (4.1)$$

где $\text{ПК}_{\text{вим}}$ – плотность клеток по виментину, $\text{ПК}_{\text{вин}}$ – плотность клеток по винкулину.

Модифицирование ПЛГА скаффолдов увеличивает численность фибробластов десны человека в ~ 7 раз (с 176 клеток/мм² до 1179 клеток/мм²) (Рисунок 4.12). Это означает, что нанесение тонких плёнок титана на поверхность полимерных скаффолдов значительно улучшает клеточную адгезию и пролиферативную активность.

Немодифицированные ПЛГА скаффолды показывают более низкую пролиферативную активность, чем модифицированные. В первую очередь это связано с низкой смачиваемостью немодифицированных скаффолдов (Рисунок 4.8) [216]. Значительное улучшение клеточной адгезии и пролиферации после модифицирования связано с приданием поверхности скаффолдов гидрофильных свойств, что благоприятно влияет на их биосовместимость [217].

4.8. Выводы по четвёртой главе

Полимерные скаффолды из поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА) были успешно изготовлены методом электроспиннинга. ПЛГА скаффолды были модифицированы титаном методом магнетронного распыления. Результаты, полученные при исследовании модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов, были внедрены в научную деятельность ФГБУН «Институт цитологии Российской академии наук», акт внедрения приведен в Приложении А. По результатам исследований физико-химических, механических и биологических свойств ПЛГА скаффолдов сделаны следующие выводы:

1. На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 1000$, и на АСМ изображениях, полученных при площади сканирования 40×40 мкм², было показано, что ПЛГА скаффолды обладают нетканой структурой. Средний диаметр волокон и

площадь пор немодифицированных и модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов варьируются в диапазоне $(1,72 \div 1,80) \pm 0,62$ мкм и $(25,37 \div 27,70) \pm 18,16$ мкм², соответственно. АСМ микрофотографии, снятые при сканировании поверхности скаффолдов площадью 40×40 мкм², демонстрируют то, что шероховатость немодифицированных и модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов варьируется в диапазоне $(836 \div 901) \pm 71$ нм. Процесс плазменного модифицирования титаном достоверно не влияет на средний диаметр волокон, среднюю площадь пор и шероховатость поверхности ПЛГА скаффолдов.

2. Анализ элементного состава скаффолдов ЭДРС методом показывает, что на немодифицированных ПЛГА скаффолдах наблюдаются пики углерода ($C = 59,9 \pm 5,5$ ат. %) и кислорода ($O = 40,1 \pm 4,1$ ат. %). На ЭДРС спектре модифицированных ПЛГА скаффолдов наблюдаются пики углерода ($C = 53,9 \pm 6,7$ ат. %), кислорода ($O = 43,3 \pm 7,8$ ат. %) и титана ($Ti = 2,8 \pm 1,9$ ат. %).

3. На обзорных РФЭС спектрах немодифицированных ПЛГА скаффолдов после их обработки пучком ионов можно заметить увеличение концентрации кислорода. У модифицированных образцов после обработки ионным пучком наблюдается снижение концентрации углерода и увеличение титана. Такие результаты свидетельствуют о возникновении атмосферных углеродных загрязнений на поверхности модифицированных титаном волокон ПЛГА скаффолдов.

4. На поверхности ПЛГА скаффолдов после модифицирования титаном возникают химические соединения из оксидов титана (TiO , Ti_2O_3 , TiO_2) и карбида титана (TiC).

5. Краевые углы смачивания после 2 секунд и 1 минуты взаимодействия капль воды с поверхностью ПЛГА скаффолдов практически не отличаются. Поверхность немодифицированных ПЛГА скаффолдов обладает гидрофобными свойствами, поскольку краевые углы смачивания варьируются в диапазоне $(116 \div 118) \pm 5^\circ$. После взаимодействия капль воды в течение 2 секунд и 1 минуты с поверхностью скаффолдов «Ti» краевые углы смачивания в обоих случаях оказались равными 0° . Капли воды поглощаются поверхностью

модифицированных титаном скаффолдов, что указывает на наличие у таких скаффолдов гидрофильных и абсорбирующих свойств.

6. Анализ механических свойств демонстрирует, что немодифицированные и модифицированные титаном PLLA скаффолды обладают пределом прочности $(3,2 \div 3,6) \pm 0,3$ МПа и максимальным удлинением при разрыве $(427 \div 452) \pm 65$ %.

7. Значение остаточной массы немодифицированного PLLA скаффолда, измеренное методом термогравиметрического анализа, оказывается равным 0 мг. Это свидетельствует о том, что полимерный скаффолд сгорает в воздушной атмосфере без остатка. Значение остаточной массы модифицированного PLLA скаффолда после его термической декомпозиции оказывается равным $0,29 \pm 0,18$ мг. Это свидетельствует об относительной концентрации титана около $7,7 \pm 4,8$ мас. %.

8. Результаты биологических исследований демонстрируют увеличение численности фибробластов десны человека на модифицированных PLLA скаффолдах в ~ 7 раз (с 176 клеток/мм² до 1179 клеток/мм²). Следовательно, модифицирование полимерных PLLA скаффолдов титаном значительно улучшает адгезию и пролиферативную активность клеток.

ГЛАВА 5. Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные, антибактериальные и биологические свойства ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом одновременного магнетронного распыления меди и титана (Cu-Ti)

5.1. Внешний вид ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.1 приведены фотографии нетканых материалов на основе сополимера поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА), немодифицированных и модифицированных методом одновременного магнетронного распыления медной и титановой мишеней (Cu-Ti).

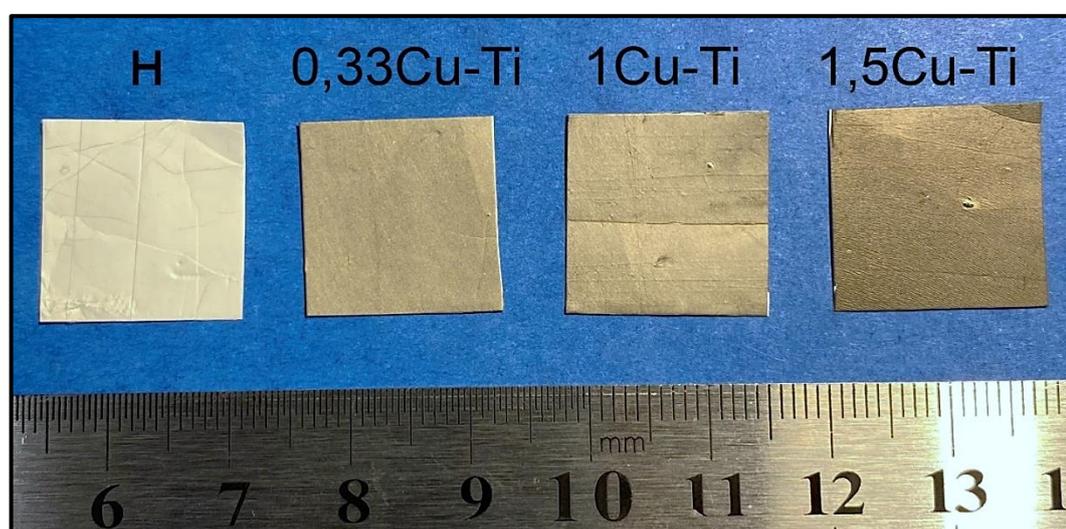


Рисунок 5.1 – Изображения немодифицированных и модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов. Немодифицированные образцы обозначаются «H», модифицированные с расчётным соотношением меди к титану 0,33; 1 и 1,5 обозначаются «0,33Cu-Ti», «1Cu-Ti», «1,5Cu-Ti», соответственно

Немодифицированные ПЛГА скаффолды (Рисунок 5.1, H) имеют белый цвет. При увеличении соотношения меди к титану с 0,33 до 1,5 цвет поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов изменяется от светло-коричневого до тёмно-коричневого (Рисунок 5.1). Такое изменение цвета поверхности образцов косвенно подтверждает увеличение соотношения меди к титану.

5.2. Морфология поверхности ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.2 представлены СЭМ изображения, полученные при увеличениях $\times 500$ и $\times 15000$, и АСМ изображения немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов, полученные при площадях сканирования $40 \times 40 \text{ мкм}^2$ и $1 \times 1 \text{ мкм}^2$.

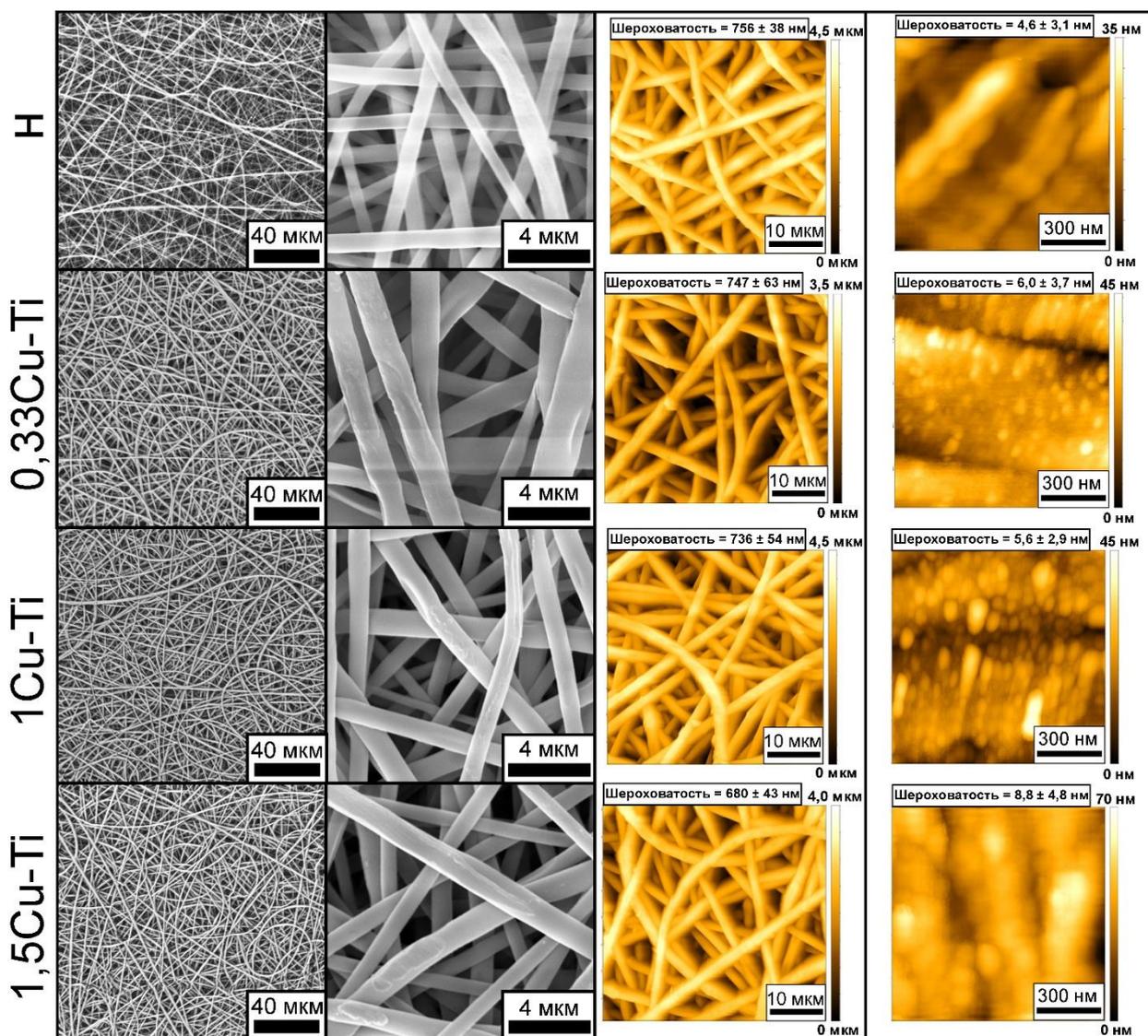


Рисунок 5.2 – СЭМ изображения при увеличении $\times 500$ (первый столбец), СЭМ изображения при увеличении $\times 15000$ (второй столбец), АСМ изображения при площади сканирования $40 \times 40 \text{ мкм}^2$ (третий столбец), АСМ изображения при площади сканирования $1 \times 1 \text{ мкм}^2$ (четвёртый столбец) немодифицированных (H) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti; 1Cu-Ti; 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.3 представлены гистограммы распределения диаметров волокон и площадей пор Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов, рассчитанные на основе СЭМ изображений, а также средние значения пористости.

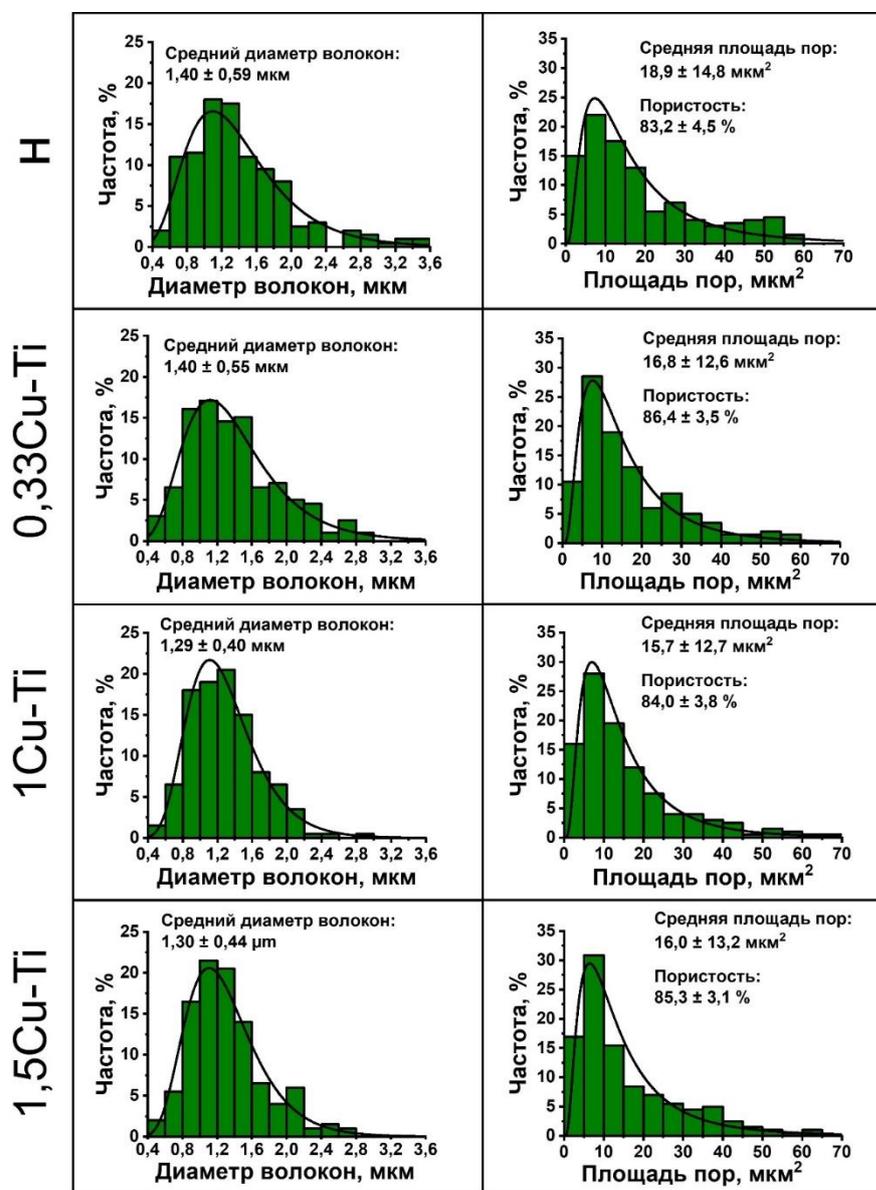


Рисунок 5.3 – Гистограммы распределения диаметров волокон (слева) и площадей пор (справа) со значениями пористости (справа) немодифицированных (H) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti; 1Cu-Ti; 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов.

Обозначения: 0,33Cu-Ti – скаффолды с наименьшим соотношением Cu/Ti; 1Cu-Ti – скаффолды со средним соотношением Cu/Ti; 1,5Cu-Ti – скаффолды с наибольшим соотношением Cu/Ti (более полная информация приведена в разделе

На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 500$, и на АСМ изображениях, полученных при площади сканирования 40×40 мкм², было показано, что ПЛГА скаффолды состоят из хаотично переплетённых волокон (Рисунок 5.2, первый и третий столбцы). Средний диаметр немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов варьируется в диапазоне $(1,29 \div 1,40) \pm 0,59$ мкм (Рисунок 5.3, слева). Средняя площадь пор и пористость у образцов варьируется в диапазоне $(15,7 \div 18,9) \pm 14,8$ мкм² и $(83,2 \div 86,4) \pm 4,5$ %, соответственно (Рисунок 5.3, справа). На базе АСМ изображений было определено, что шероховатость поверхности немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов при площади сканирования 40×40 мкм² варьируется в диапазоне $(680 \div 756) \pm 63$ нм (Рисунок 5.2, третий столбец). Модифицирование ПЛГА скаффолдов в заданных режимах достоверно не изменяет средний диаметр волокон, среднюю площадь пор, пористость и шероховатость поверхности, которая была снята при площади сканирования 40×40 мкм².

На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 15000$, и на АСМ изображениях, полученных при площади сканирования 1×1 мкм², показано, что отдельные волокна немодифицированных ПЛГА скаффолдов (н) имеют гладкую поверхность (Рисунок 5.2, второй и четвёртый столбцы). Волокна немодифицированных ПЛГА скаффолдов (н) обладают наименьшей шероховатостью $4,6 \pm 3,1$ нм (Рисунок 5.2, четвёртый столбец). Волокна 0,33Cu-Ti и 1Cu-Ti скаффолдов имеют шероховатость $6,0 \pm 3,7$ нм и $5,6 \pm 2,9$ нм (Рисунок 5.2, четвёртый столбец). Волокна 1,5Cu-Ti скаффолдов имеют наибольшую шероховатость, которая составляет $8,8 \pm 2,9$ нм (Рисунок 5.2, четвёртый столбец, 1,5Cu-Ti). Шероховатость волокон ПЛГА в результате модифицирования увеличивается и на них появляются отдельные островки круглой формы (Рисунок 5.2, второй и четвёртый столбцы, 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti). Увеличение шероховатости и размеров островков связано с ростом мощности, подаваемой на магнетрон с медной мишенью (Таблица 2.6), что характерно для покрытий, изготовленных методом магнетронного распыления [218], и объясняется

трёхмерным островковым механизмом формирования тонких плёнок [151] (модель Вольмера – Вебера [154]).

Таким образом, модифицирование в заданных режимах (Таблица 2.6) не влияет на волокнистую морфологию PLLGA скаффолдов (Рисунок 5.2, первый и третий столбцы). Однако, при плазменном модифицировании на отдельных волокнах скаффолдов появляются островки круглой формы, размер которых совместно с шероховатостью волокон (Рисунок 5.2, второй и четвёртый столбцы) увеличиваются с увеличением мощности разряда.

5.3. Элементный и химический составы поверхности PLLGA скаффолдов

На рисунке 5.4 представлены спектры немодифицированных и Cu-Ti модифицированных PLLGA скаффолдов, полученные методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС).

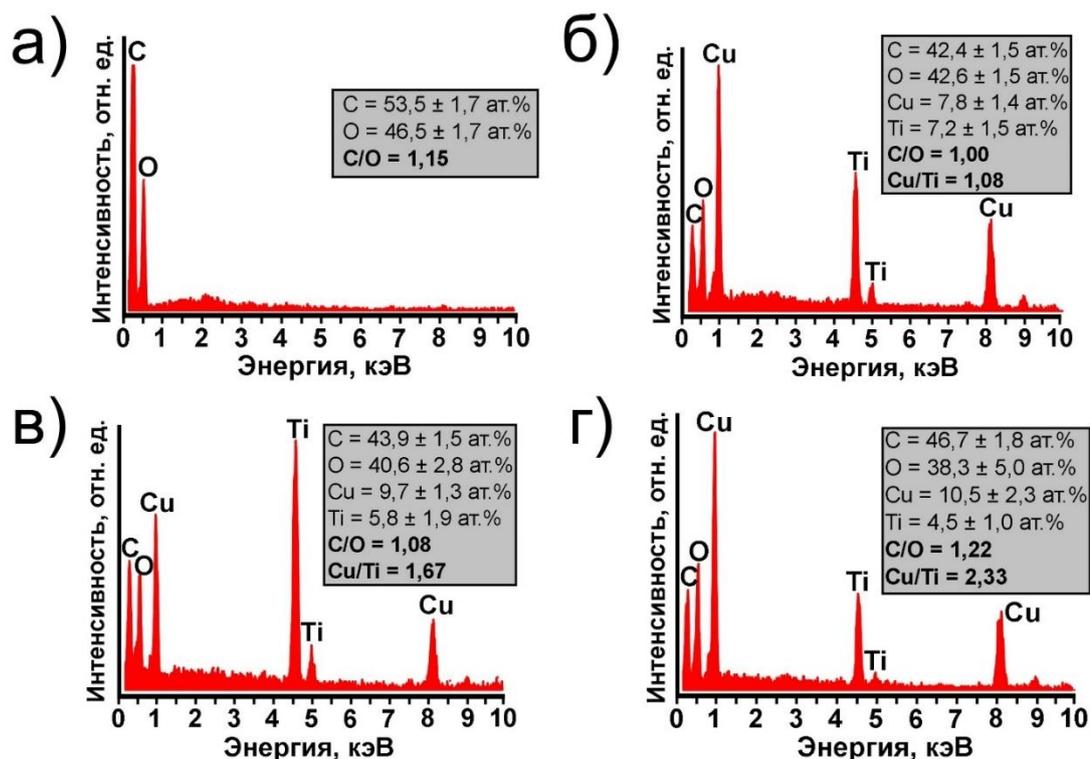


Рисунок 5.4 – ЭДРС спектры немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) PLLGA скаффолдов: а) н, б) 0,33Cu-Ti, в) 1Cu-Ti, г) 1,5Cu-Ti. Концентрации элементов представлены в атомных процентах (ат. %)

На ЭДРС спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов наблюдаются пики углерода ($C = 53,5 \pm 1,7$ ат. %) и кислорода ($O = 46,5 \pm 1,7$ ат. %), которые входят в состав полимера ПЛГА (Рисунок 5.4а). На спектре модифицированных 0,33Cu-Ti скаффолдов (образцы с наименьшим соотношением Cu/Ti) помимо углерода ($C = 42,4 \pm 1,5$ ат. %) и кислорода ($O = 42,6 \pm 1,5$ ат. %) можно наблюдать пики меди ($Cu = 7,8 \pm 1,4$ ат. %) и титана ($Ti = 7,2 \pm 1,5$ ат. %), что свидетельствует о формировании композитной тонкой плёнки (Рисунок 5.4б). Модифицированные 1Cu-Ti скаффолды (образцы со средним соотношением Cu/Ti) состоят из углерода ($C = 43,9 \pm 1,5$ ат. %), кислорода ($O = 40,6 \pm 2,8$ ат. %), меди ($Cu = 9,7 \pm 1,3$ ат. %) и титана ($Ti = 5,8 \pm 1,9$ ат. %) (Рисунок 5.4в). Модифицированные 1,5Cu-Ti скаффолды (образцы с наибольшим соотношением Cu/Ti) содержат в себе углерод ($C = 46,7 \pm 1,8$ ат. %), кислород ($O = 38,3 \pm 5,0$ ат. %), медь ($Cu = 10,5 \pm 2,3$ ат. %) и титан ($Ti = 4,5 \pm 1,0$ ат. %) (Рисунок 5.4г).

Значения соотношений углерода к кислороду (C/O) у немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов варьируются в узком диапазоне ($1,00 \div 1,22$) (Рисунок 5.4). Общая концентрация металлических компонент варьируется от 15,0 до 15,5 ат. % (Рисунок 5.4), что указывает на корректно выбранные режимы Cu-Ti модифицирования (Таблица 2.6). Модифицированные 0,33Cu-Ti скаффолды имеют наименьшее соотношение Cu/Ti (1,08), 1Cu-Ti – среднее соотношение Cu/Ti (1,67), а 1,5Cu-Ti скаффолды обладают наибольшим соотношением Cu/Ti (2,33).

На рисунке 5.5 представлены обзорные спектры немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов, полученные методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС).

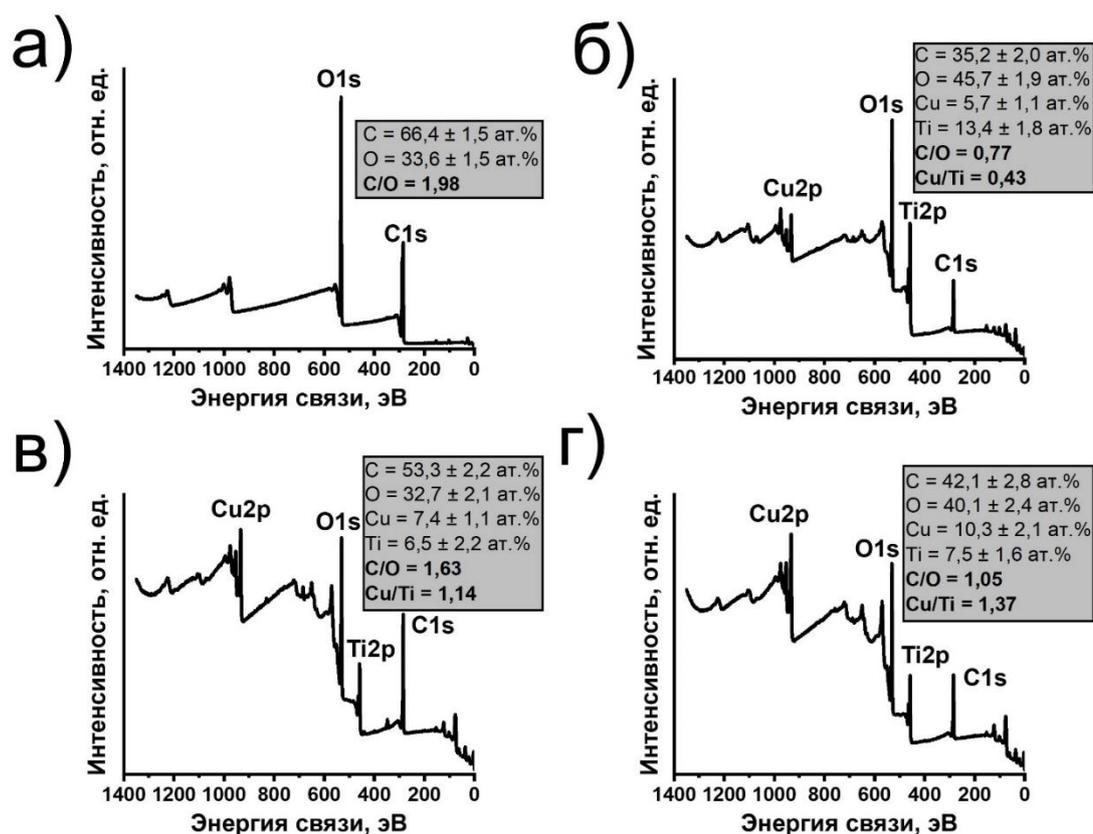


Рисунок 5.5 – Обзорные РФЭС спектры немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов: а) н, б) 0,33Cu-Ti, в) 1Cu-Ti, г) 1,5Cu-Ti. Концентрации всех элементов представлены в атомных процентах (ат. %)

На обзорном спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов можно наблюдать пики углерода ($C = 66,4 \pm 1,5$ ат. %) и кислорода ($O = 33,6 \pm 1,5$ ат. %) (Рисунок 5.5а). На обзорном РФЭС спектре модифицированных ПЛГА скаффолдов 0,33Cu-Ti помимо углерода ($C = 35,2 \pm 2,0$ ат. %) и кислорода ($O = 45,7 \pm 1,9$ ат. %) присутствуют медь ($Cu = 5,7 \pm 1,1$ ат. %) и титан ($Ti = 13,4 \pm 1,8$ ат. %) (Рисунок 5.5б). На РФЭС спектре модифицированных скаффолдов 1Cu-Ti можно отметить пики, указывающие на наличие углерода ($C = 53,3 \pm 2,2$ ат. %), кислорода ($O = 32,7 \pm 2,1$ ат. %), меди ($Cu = 7,4 \pm 1,1$ ат. %) и титана ($Ti = 6,5 \pm 2,2$ ат. %) (Рисунок 5.5в). На РФЭС спектре 1,5Cu-Ti скаффолдов также наблюдаются пики, которые указывают на присутствие углерода ($C = 42,1 \pm 2,8$ ат. %), кислорода ($O = 40,1 \pm 2,4$ ат. %), меди ($Cu = 10,3 \pm 2,1$ ат. %) и титана ($Ti = 7,5 \pm 1,6$ ат. %) (Рисунок 5.5г).

На обзорном РФЭС спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов (н) элементное соотношение углерода к кислороду (C/O) составляет 1,98. После плазменного модифицирования ПЛГА скаффолдов соотношение C/O уменьшается и варьируется в широких пределах $0,77 \div 1,63$. У модифицированных 0,33Cu-Ti образцов соотношение Cu/Ti наименьшее (0,43), у 1Cu-Ti образцов соотношение среднее (1,14), у 1,5Cu-Ti образцов Cu/Ti соотношение наибольшее (1,37) (Рисунок 5.4). Можно заметить, что соотношения Cu/Ti у ПЛГА скаффолдов, полученные из обзорных РФЭС спектров (0,43, 1,14, 1,37), хорошо коррелируют с расчётными соотношениями (0,33, 1, 1,5). Это свидетельствует о корректно выбранных режимах модифицирования ПЛГА скаффолдов (Таблица 2.6).

На рисунке 5.6 отображены рамановские спектры немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов.

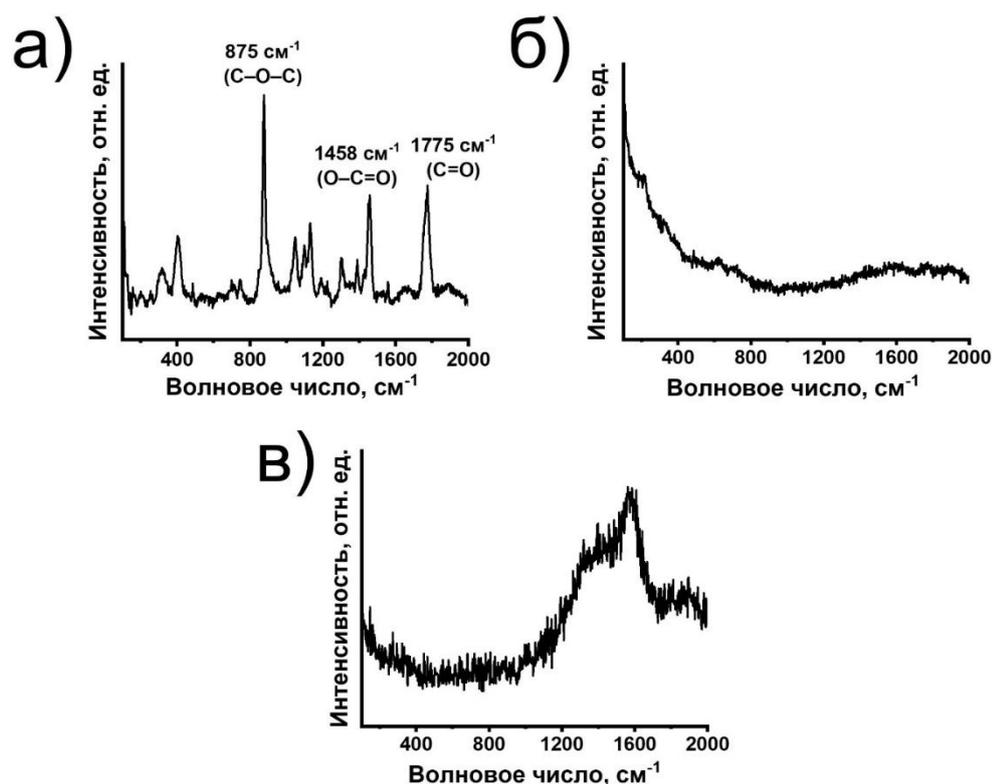


Рисунок 5.6 – Рамановские спектры немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (1Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов: а) н, б) 1Cu-Ti до обработки лазерным пучком, в) 1Cu-Ti после обработки лазерным пучком

На рамановском спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов присутствуют три высокоинтенсивных пика с максимумами в точках 877, 1458 и 1775 см^{-1} (Рисунок 5.6а). Интенсивность и расположение пиков характерны для нетканых ПЛГА скаффолдов [202]. Для образцов 1Cu-Ti пики отсутствуют, это указывает на то, что медно-титановая тонкая плёнка полностью покрывает поверхность волокнистых скаффолдов (Рисунок 5.6б). Полученный рамановский спектр для модифицированных 1Cu-Ti образцов коррелирует с работами, посвященными исследованию тонких плёнок из оксида меди [219] и тонких плёнок из оксидов меди/титана [220], полученных методом магнетронного распыления. Отсутствие выраженных пиков на спектре комбинационного рассеяния у медно-титановых пленок обычно указывает на их аморфную структуру [220]. После усиления энергии лазерного пучка в спектре для 1Cu-Ti образцов можно наблюдать широкий пик в области значений от 1200 до 1600 см^{-1} , который свидетельствует о формировании аморфного углерода [221]. Такой пик, по всей видимости, возникает в результате плавления термочувствительного ПЛГА.

В то время как на рамановском спектре модифицированных 1Cu-Ti скаффолдов нет никаких пиков (Рисунок 5.6б), на обзорных РФЭС спектрах модифицированных образцов наблюдаются углеродные C1s пики с интенсивностями, указывающими на содержание углерода в образцах от 35,2 до 53,3 ат. % (Рисунок 5.5). Отсутствие пиков на рамановских спектрах модифицированных 1Cu-Ti скаффолдов, наиболее вероятно, связано с тем, что металлическое покрытие на волокнах модифицированных ПЛГА скаффолдов отражает лазерный луч, в результате чего значительно снижается интенсивность сигнала. Более того, отсутствие полимерных пиков ПЛГА на спектрах комбинационного рассеивания и значительное изменение интенсивности пиков C1s в обзорных спектрах модифицированных ПЛГА скаффолдов может быть связано с атмосферными углеродными загрязнениями. Известно, что такие загрязнения присутствуют в окружающем воздухе [160]. В работе [160] было показано, что в воздушной атмосфере на поверхности серебра осаждаются

углеродные загрязнения, и их концентрация увеличивается с 0 % до 24 % в течение 4 дней.

На рисунке 5.7 показаны РФЭС спектры валентной зоны в областях C1s, Cu2p_{3/2}, Ti2p, полученные при сканировании поверхности немодифицированных и Cu-Ti модифицированных PLLGA скаффолдов.

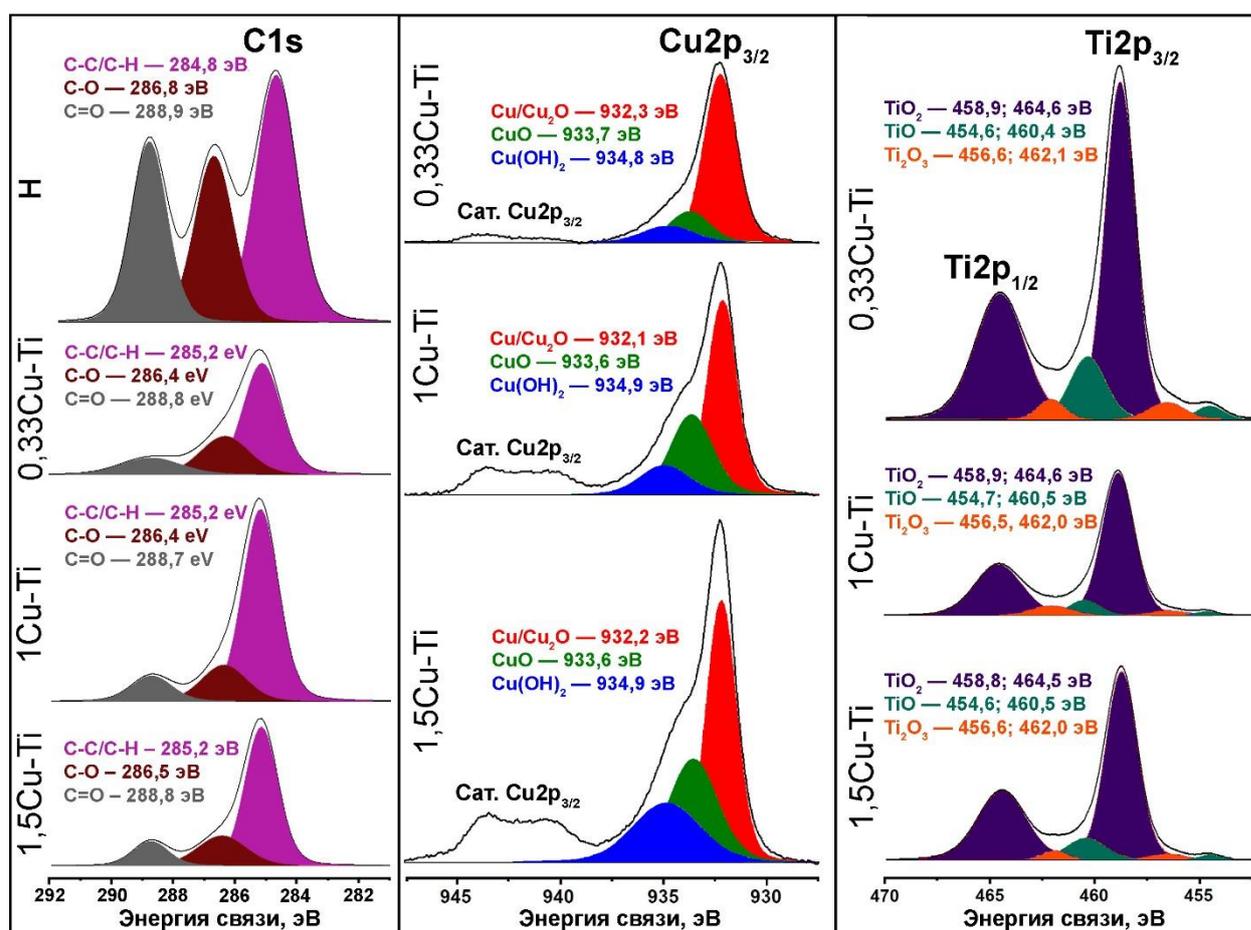


Рисунок 5.7 – РФЭС спектры валентной зоны в области C1s (слева), Cu2p_{3/2} (посередине) и Ti2p (справа) немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) PLLGA скаффолдов. Примечание: спектры Cu2p_{3/2} и Ti2p для немодифицированных PLLGA скаффолдов не отображены, поскольку на них не было обнаружено меди и титана

Деконволюция C1s спектра немодифицированных PLLGA скаффолдов позволяет определить три углеродные компоненты, которые выделены следующими цветами: розовый, коричневый и серый (Рисунок 5.7, слева, н). Розовая компонента имеет максимум в точке 284,8 эВ и указывает на химические соединения C-C/C-H. Коричневая компонента имеет максимум при энергии связи

286,8 эВ и указывает на соединения С-О. Серая компонента с максимумом на энергии связи 288,9 эВ указывает на химические соединения С=О [222–224]. Форма, интенсивность и положение каждой компоненты соответствует полимеру ПЛГА [225].

На С1s спектрах Cu-Ti модифицированных ПЛГА образцов (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) можно наблюдать три компоненты, отмеченные розовым, коричневым и серым цветом (Рисунок 5.7, слева). Пики розового цвета с максимумом в точке 285,2 эВ, указывают на химические соединения С-С/С-Н. Пики коричневого цвета с максимумами на энергиях связи 286,4 ÷ 286,5 эВ, указывают на соединения С-О. Пики серого цвета с максимумами на энергиях связи 288,7 ÷ 288,8 эВ, указывают на наличие соединений С=О. После модифицирования поверхности ПЛГА скаффолдов химические связи С-С/С-Н и С-О сместились на 0,4 эВ влево и вправо, соответственно. Этот энергетический сдвиг химических углеродных связей может быть связан с тем, что на С1s спектрах модифицированных скаффолдов наблюдаются пики, указывающие не только на полимер ПЛГА, но и на органические загрязнения. Расположение и интенсивность компонент на С1s спектрах модифицированных образцов согласуются с работой, в которой исследовались органические загрязнения на металлических подложках [226]. Подобные положения и интенсивность пиков наблюдались также в работе [227], в которой органические загрязнения были обнаружены на металлосодержащих композитных покрытиях. Такие покрытия были изготовлены на волоконных материалах из хлопка методом одновременного магнетронного распыления. Более того, такое смещение пиков углерода указывает на зарядный эффект в процессе осаждения металла [228].

На Cu2p_{3/2} спектрах модифицированных ПЛГА скаффолдов (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) наблюдаются высокоинтенсивные пики Cu2p_{3/2} и широкие низкоинтенсивные сателлитные пики Cu2p_{3/2} (Рисунок 5.7, посередине). Деконволюция пиков Cu2p_{3/2} позволила выделить три соединения, соответствующие различным медьсодержащим химическим связям. Красный, зелёный и синий компоненты на энергиях связи в диапазонах 932,1 ÷ 932,3 эВ, 933,6

$\div 933,7$ эВ и $934,8 \div 934,9$ эВ относятся к следующим соединениям меди Cu/Cu₂O, CuO и Cu(OH)₂, соответственно (Рисунок 5.7, посередине) [162]. Модифицированные 0,33Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолды обладают наименьшей и наибольшей интенсивностью медьсодержащих химических соединений, соответственно (Рисунок 5.7, посередине). Сателлитные пики Cu2p_{3/2}, которые находятся в диапазоне энергий $\sim 940 \div 945$ эВ, указывают на присутствие двухвалентной меди, а их интенсивность прямо указывает на процентное содержание таких соединений на поверхности модифицированных скаффолдов (Рисунок 5.7, посередине).

На Ti2p спектрах модифицированных скаффолдов можно наблюдать два высокоинтенсивных пика Ti2p_{3/2} и Ti2p_{1/2} (Рисунок 5.7, справа). В каждом Ti2p спектре можно выделить по шесть компонент (Рисунок 5.7, справа). Компоненты с фиолетовым цветом обладают наибольшей интенсивностью и расположены в областях энергий связи $458,8 \div 458,9$ эВ и $464,5 \div 464,6$ эВ, что указывает на образование TiO₂. Компоненты с зелёно-синим цветом, расположенные в областях энергий связи $454,6 \div 454,7$ эВ и $460,4 \div 460,5$ эВ, свидетельствуют о наличии TiO. Максимумы компонент оранжевого цвета, расположенные в областях энергий $456,5 \div 456,6$ эВ и $462,0 \div 462,1$ эВ, соответствуют Ti₂O₃ [210, 211, 229]. Модифицированные 0,33Cu-Ti и 1Cu-Ti образцы имеют наиболее и наименее интенсивные Ti2p компоненты, соответственно (Рисунок 5.7, справа).

После модифицирования ПЛГА скаффолдов медью и титаном методом одновременного магнетронного распыления на их поверхности были образованы металлосодержащие соединения из меди (Cu), оксидов меди (CuO/Cu₂O), гидроксида меди (Cu(OH)₂) и оксидов титана (TiO/TiO₂/Ti₂O₃). Появление таких компонент связано с тем, что химически активная поверхность модифицированных ПЛГА скаффолдов активно взаимодействует с кислородом из окружающего воздуха [230]. Кинем и др. было показано, что композитные медно-титановые тонкие плёнки, изготовленные методом магнетронного распыления, содержат соединения TiO, Ti₂O₃, TiO₂, Cu₂O и CuO [231]. Образование Cu(OH)₂, наиболее

вероятно, связано с взаимодействием химически активных компонентов меди с водой [232].

5.4. Морфология и элементное картирование поперечного сечения ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.8 представлены СЭМ изображения профиля поверхности и ЭДРС картирование по элементам меди и титана немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов.

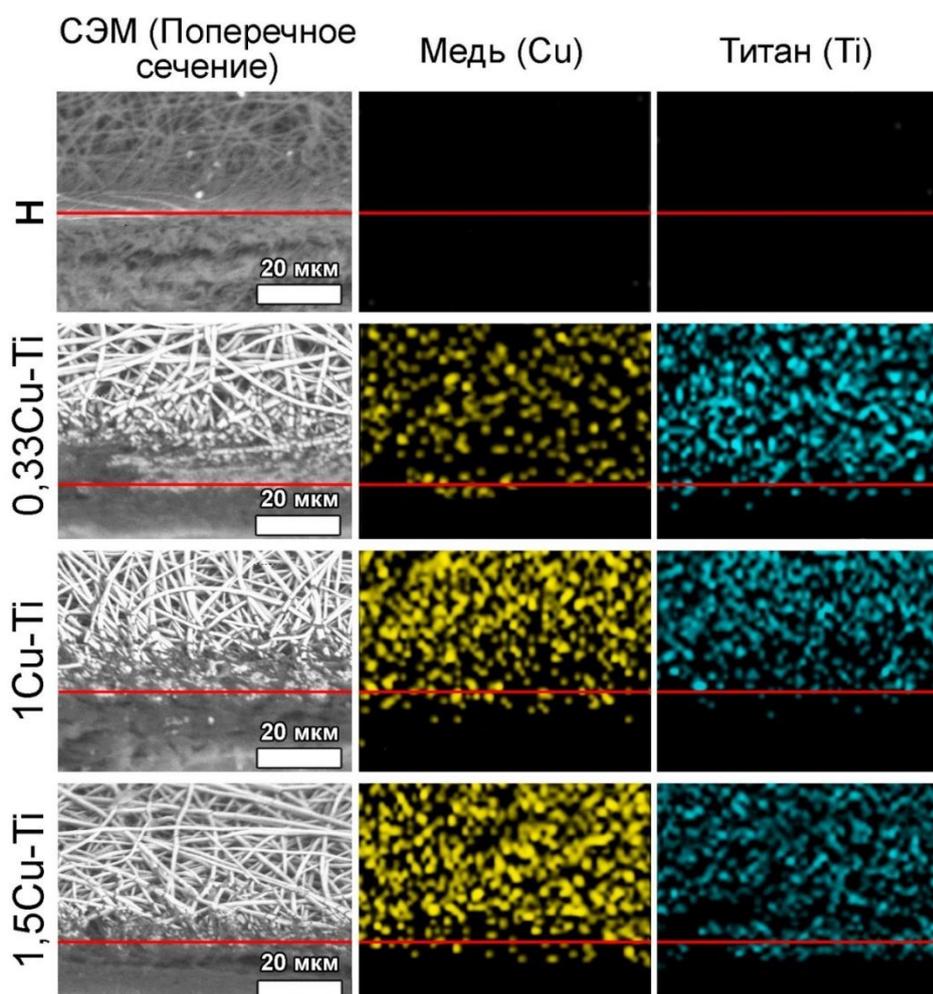


Рисунок 5.8 – СЭМ изображения профиля поверхности (слева), ЭДРС картирование элементов меди (Cu, посередине) и титана (Ti, справа) немодифицированных (H) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) скаффолдов при увеличении $\times 2500$. На каждом СЭМ изображении выше красной линии показаны полимерные волокна, расположенные на поверхности ПЛГА скаффолдов, ниже красной линии наблюдается место поперечного среза скаффолдов

На немодифицированных PLLGA скаффолдах отсутствуют Cu и Ti (Рисунок 5.8, н), в то время как поверхность модифицированных PLLGA скаффолдов полностью покрыта медью и титаном (Рисунок 5.8, 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti). В поперечном сечении элементы меди и титана практически отсутствуют у всех PLLGA образцов (Рисунок 5.8, ниже красной линии). Это свидетельствует о том, что модифицированию подвергаются только приповерхностные слои PLLGA скаффолдов, в то время как в объёме какие-либо изменения отсутствуют. Преимущественное модифицирование приповерхностных слоёв полимерных скаффолдов связано с эффектом затенения [184]. Эффект заключается в том, что находящиеся на поверхности волокна преграждают путь распыляемым атомам, препятствуя тем самым модифицированию поверхности волокон, расположенных глубже.

5.5. Смачиваемость PLLGA скаффолдов

На рисунке 5.9 представлены фотографии капель воды и краевые углы смачивания после 1 минуты их нанесения на поверхность немодифицированных и модифицированных PLLGA скаффолдов.

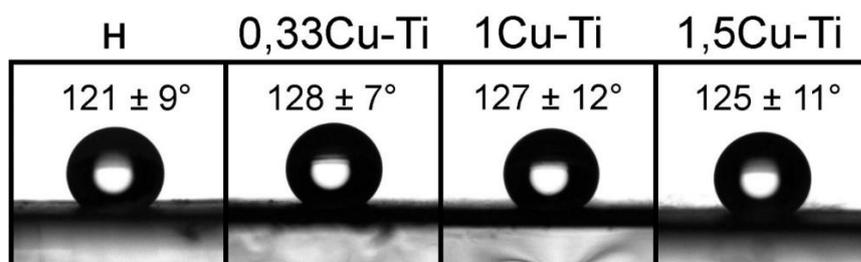


Рисунок 5.9 – Фотографии капель воды на поверхности немодифицированных (н) модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) PLLGA скаффолдов и соответствующие им краевые углы смачивания

Значения краевых углов смачивания для немодифицированных и Cu-Ti модифицированных PLLGA образцов варьируются в узком диапазоне (121 ÷ 128) ± 11° (Рисунок 5.9). Модифицирование медью и титаном достоверно не влияет на смачивающие способности PLLGA скаффолдов, что может быть связано со следующими факторами:

1) Сохранение волокнистой морфологии поверхности и шероховатости (при площади сканирования 40×40 мкм²) PLLGA скаффолдов после их Cu-Ti модифицирования, что показано результатами СЭМ и АСМ (Рисунок 5.2, первый и третий столбцы);

2) Тонкие плёнки меди, нанесённые на поверхность полимеров методом магнетронного распыления, имеют гидрофобную природу [233, 234]. Однако тонкие плёнки титана придают полимерным поверхностям гидрофильные свойства [110]. Таким образом, можно заключить, что даже при относительно низких концентрациях меди на поверхности Cu-Ti модифицированных PLLGA скаффолдов её количества достаточно для сохранения гидрофобных свойств;

3) Органические загрязнения, которые осаждаются из атмосферы на химически активную поверхность модифицированных PLLGA скаффолдов, могут негативно влиять на их смачиваемость [235].

5.6. Механические свойства PLLGA скаффолдов

На рисунке 5.10 представлены результаты анализа механических свойств немодифицированных и Cu-Ti модифицированных PLLGA скаффолдов.

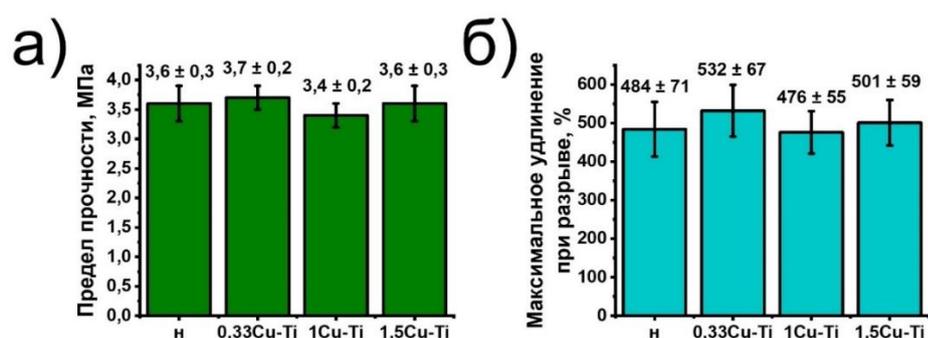


Рисунок 5.10 – Механические свойства немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) PLLGA скаффолдов: а) предел прочности, б) максимальное удлинение при разрыве

Значения предела прочности и максимального удлинения при разрыве для немодифицированных и модифицированных PLLGA скаффолдов варьируются в диапазонах $(3,4 \div 3,7) \pm 0,3$ МПа и $(476 \div 532) \pm 67$ %, соответственно (Рисунок 5.10). Плазменное модифицирование методом одновременного магнетронного

распыления достоверно не влияет на предел прочности ПЛГА скаффолдов и на максимальное удлинение при разрыве. Сохранение механических свойств после модифицирования ПЛГА скаффолдов может быть связано с преимущественным модифицированием только приповерхностных слоёв скаффолдов, в то время как в глубине скаффолды остаются неизменными (Рисунок 5.8). Также это может быть связано с сохранением волокнистой морфологии поверхности скаффолдов (Рисунок 5.2, второй столбец) и с сохранением среднего диаметра волокон (Рисунок 5.3) после модифицирования.

5.7. Термогравиметрический анализ ПЛГА скаффолдов

Результаты термогравиметрии и дифференциальной термогравиметрии немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов приведены на рисунке 5.11.

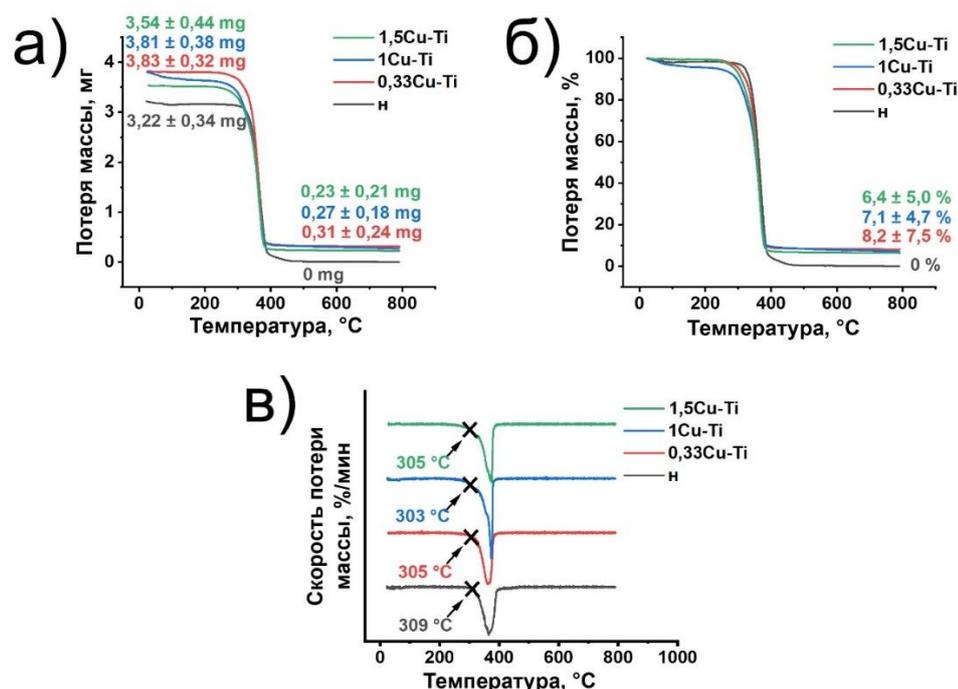


Рисунок 5.11 – Термогравиметрические (ТГ) и дифференциальные термогравиметрические (ДТГ) кривые немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) скаффолдов из ПЛГА: а) ТГ кривые с осью ОУ в миллиграммах (мг), б) ТГ кривые с осью ОУ в процентах (%), в) ДТГ кривые

Средний вес немодифицированных ПЛГА скаффолдов (н) составляет $3,22 \pm 0,78$ мг (Рисунок 5.11а). Средние веса модифицированных 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti скаффолдов составляют $3,83 \pm 0,91$ мг, $3,81 \pm 1,21$ мг и $3,54 \pm 1,02$ мг, соответственно (Рисунок 5.11а). После проведения термогравиметрического анализа немодифицированные ПЛГА скаффолды полностью сгорели в воздушной атмосфере, в то время как у модифицированных 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолдов наблюдалась остаточная масса: $0,31 \pm 0,24$ мг ($8,2 \pm 7,5\%$); $0,27 \pm 0,18$ мг ($7,1 \pm 4,7\%$) и $0,23 \pm 0,21$ мг ($6,4 \pm 5,0\%$), соответственно (Рисунок 5.11а и 5.11б). Это указывает на то, что во время модифицирования на поверхность ПЛГА волокон осаждались плёнка из меди и титана, относительный вес которой составлял $(6,4 \div 8,2) \pm 7,5\%$ от всего веса модифицированных ПЛГА скаффолдов. Вес металлической тонкой пленки на поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов достоверно не изменялся и не зависел от применяемых рабочих параметров модифицирования (Таблица 2.6). Это указывает на корректно выбранные режимы модифицирования, при которых на каждую группу ПЛГА образцов осаждалось примерно одинаковое количество атомов меди и титана. Это подтверждается ЭДРС анализом (раздел 5.3), которым было показано, что на поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов общее количество меди и титана варьируется от 15,0 ат. % до 15,5 ат. %.

Температура термического разложения немодифицированных ПЛГА скаффолдов составляет 309 °С (Рисунок 5.11в). Температура термического разложения модифицированных ПЛГА скаффолдов находится в диапазоне $303 \div 305$ °С (Рисунок 5.11в). Модифицирование поверхности ПЛГА скаффолдов путём одновременного магнетронного распыления меди и титана не приводит к существенному изменению температуры термического разложения.

5.8. Количество и скорость выхода ионов меди с поверхности ПЛГА скаффолдов в воду

На рисунке 5.12 представлены зависимости количества и скорости выхода ионов меди, высвобожденных с поверхности модифицированных ПЛГА

скаффолдов в воду, во времени. Количество и скорость высвобождения ионов меди определяли с использованием метода инверсионной вольтамперометрии (раздел 2.3.11).

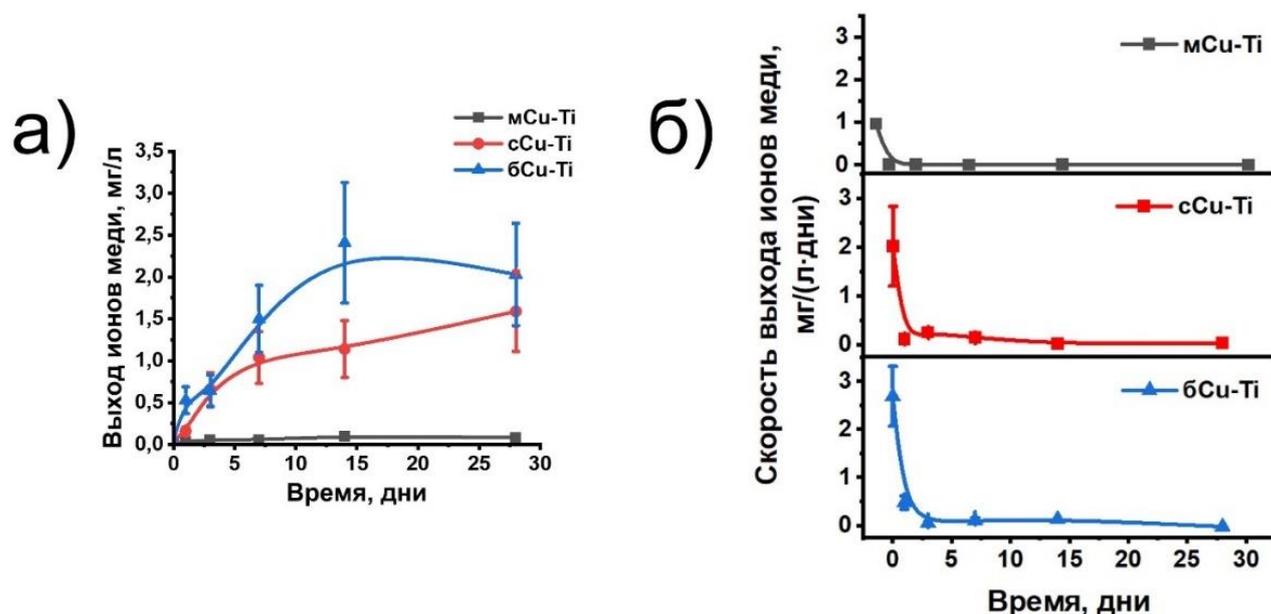


Рисунок 5.12 – Результаты инверсионной вольтамперометрии: а) количество ионов меди; б) скорость выхода ионов меди, высвобожденных с поверхности Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) в деионизированную воду

Для модифицированных образцов с наименьшим соотношением Cu/Ti (0,33Cu-Ti) максимальное количество высвобожденных ионов меди наблюдалось на 14-ый день и составляло $0,10 \pm 0,03$ мг/л (Рисунок 5.12). Для 1Cu-Ti образцов со средним соотношением Cu/Ti максимальное количество ионов меди наблюдалось на 28-ой день и составляло $1,59 \pm 0,48$ мг/л (Рисунок 5.12а). Для 1,5Cu-Ti скаффолдов с наибольшим Cu/Ti соотношением максимальное количество ионов меди наблюдалось на 14-ый день и составляло $2,41 \pm 0,13$ мг/л (Рисунок 5.12а). Максимальное количество ионов меди у 1,5Cu-Ti скаффолдов в 1,5 и 24 раза выше, чем количество ионов меди у 1Cu-Ti и 0,33Cu-Ti скаффолдов, соответственно. Через 14 дней количество меди в растворе с образцами 0,33Cu-Ti и 1,5Cu-Ti достигло максимума.

Максимальная скорость выхода ионов меди наблюдалась у 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолдов по истечении 30 минут (0 дней) и составила $0,96 \pm 0,20$ мг/(л·дни), $2,02 \pm 0,82$ мг/(л·дни) и $2,69 \pm 0,62$ мг/(л·дни), соответственно (Рисунок 5.12б). Наименьшее и наибольшее количество ионов меди и скорость выхода ионов меди наблюдались для образцов 0,33Cu-Ti и 1,5Cu-Ti, соответственно (Рисунок 5.12а и 5.12б). Увеличение соотношения Cu/Ti у модифицированных ПЛГА скаффолдов существенно увеличивает количество и скорость выхода ионов меди. Такая же зависимость отмечалась и в других работах [236, 237], в которых исследовались антибактериальные и биологические свойства Cu-Ti тонких пленок.

5.9. Морфология и элементное картирование поверхности ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.13 представлены морфология и элементное картирование поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов, исследованных до и после их помещения в пробирки с деионизированной водой на 14 и 28 дней.

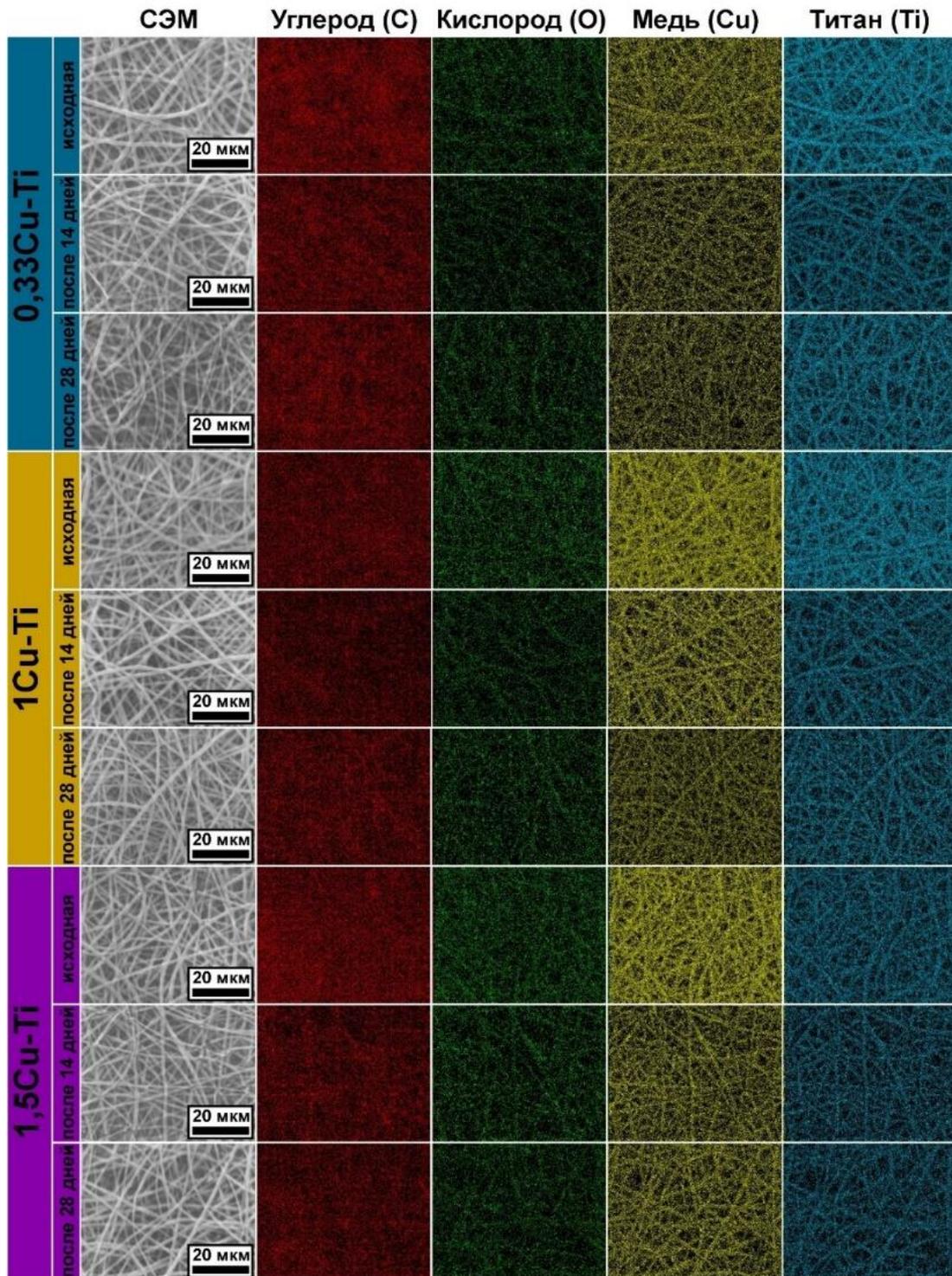


Рисунок 5.13 – СЭМ изображения поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов (слева) и ЭДРС картирование элементов углерода (С во второй колонке), кислорода (О в третьей колонке), меди (Cu в четвертой колонке) и титана (Ti в пятой колонке). СЭМ изображения и картирование элементов были получены при увеличении $\times 5000$. Масштабные линейки слева соответствуют всем изображениям, расположенным справа от них

На микрофотографиях и ЭДРС картах модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) скаффолдов можно заметить, что медь (Cu) и титан (Ti) преимущественно находятся на поверхности отдельных волокон (Рисунок 5.13). Кислород (O) также находится на поверхности полимерных волокон, однако его интенсивность намного меньше, чем интенсивность меди и титана (Рисунок 5.13, третья колонка). Это доказывает то, что на поверхности отдельных волокон образуются покрытия из оксидов меди и титана. При картировании углерода контуры отдельных волокон у модифицированных скаффолдов невозможно определить, что связано с размытостью спектров (Рисунок 5.13, вторая колонка). Это размытие можно объяснить тем, что ПЛГА скаффолды были приклеены к подложке с помощью проводящей ленты, которая преимущественно состоит из углерода. Максимальная интенсивность элементов на ЭДРС картах наблюдается у образцов до их помещения в деионизированную воду, в то время как у скаффолдов, выдержанных в течение 14 и 28 дней, интенсивность ниже (Рисунок 5.13). С увеличением длительности выдержки скаффолдов интенсивность элементов снижается (Рисунок 5.13). Это указывает на то, что через 14 и 28 дней на поверхности модифицированных скаффолдов происходит частичное растворение тонких пленок из оксидов меди и титана, что согласуется с результатами, полученными при анализе количества и скорости выхода ионов меди (раздел 5.7). После 14 и 28 дней взаимодействия с водой скаффолды сохраняли свою волокнистую структуру, а морфология в целом не изменилась, что указывает на то, что в течение этого времени не происходила деградация образцов (Рисунок 5.13, слева).

5.10. Антибактериальные свойства ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.14 показаны фотографии чашек Петри с колониями метициллин-резистентного стафилококка (MR3C), которые провзаимодействовали с немодифицированными и модифицированными ПЛГА скаффолдами.

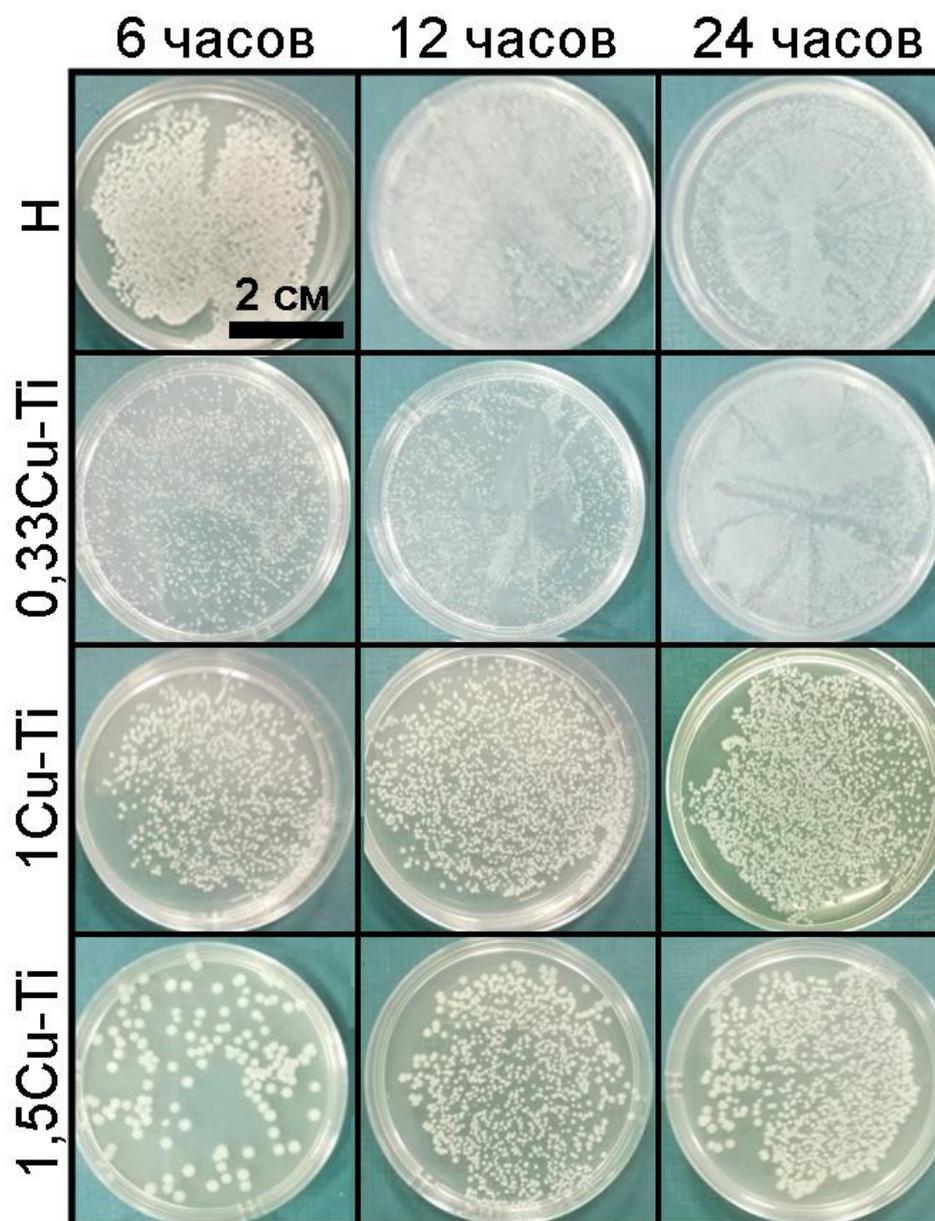


Рисунок 5.14 – Фотографии чашек Петри с колониями метициллин-резистентного стафилококка (MR3C) для немодифицированных (H) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов. Бактерии инкубировали в пробирках с ПЛГА образцами в течение 6 часов (колонка слева), 12 часов (колонка посередине) и 24 часов (колонка справа) (подробнее см. раздел 2.4.1)

По фотографиям чашек Петри (см. Рисунок 5.14) проводились подсчёты колоний MR3C, на основании которых определялись антибактериальные свойства – индикатор антибактериальной активности. Эти результаты приведены на рисунке 5.15.

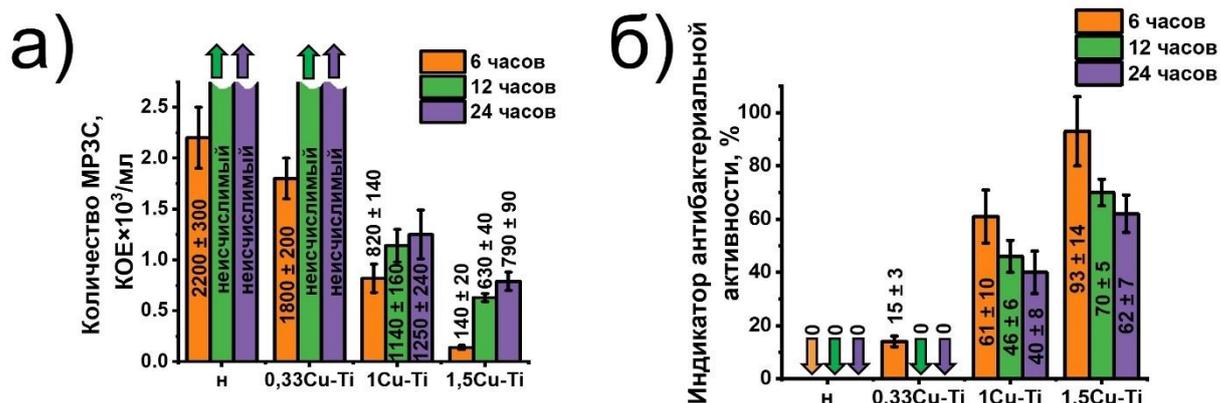


Рисунок 5.15 – Результаты исследования антибактериальных свойств немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) скаффолдов: а) количество колоний метициллин-резистентного стафилококка (МРЗС), слово "неисчислимый" указывает на то, что в чашках Петри было так много колоний МРЗС, что их было невозможно посчитать; б) индикаторы антибактериальной активности, рассчитанные на основе количества колоний МРЗС

Немодифицированные и модифицированные 0,33Cu-Ti образцы не обладают антибактериальными свойствами (Рисунок 5.15). При контакте с немодифицированными и модифицированными 0,33Cu-Ti образцами количество бактерий беспрепятственно увеличивается при всех сроках инкубирования (Рисунок 5.15а), о чем свидетельствуют практически нулевые значения антибактериальной активности (0 ÷ 14 %) (Рисунок 5.15б). При увеличении длительности инкубирования (от 6 до 24 часов) индикатор антибактериальной активности 1Cu-Ti скаффолдов уменьшался с 61 ± 10 % до 40 ± 8 %, что указывает на увеличение количества колоний МРЗС с 820 ± 140 КОЕ/мл до 1250 ± 240 КОЕ/мл (Рисунок 5.15а). Для 1,5Cu-Ti образцов с увеличением длительности инкубирования (от 6 до 24 часов) индикатор антибактериальной активности уменьшался с 93 ± 14 % до 62 ± 7 %, что соответствует увеличению колоний МРЗС с 140 ± 20 КОЕ/мл до 790 ± 90 КОЕ/мл (Рисунок 5.15). Увеличение количества колоний МРЗС с увеличением длительности инкубирования бактерий с модифицированными 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti образцами свидетельствует о том, что

такие скаффолды обладают бактериостатическими свойствами. Под бактериостатическими свойствами материалов подразумевают подавление и замедление роста микроорганизмов [238]. Модифицированные 1,5Cu-Ti скаффолды обладают наилучшими антибактериальными свойствами, поскольку у таких образцов наблюдается наибольший индикатор антибактериальной активности и, следовательно, наименьшее количество колоний МРЗС (Рисунок 5.15, 1,5Cu-Ti).

Антибактериальная активность модифицированных ПЛГА скаффолдов напрямую зависит от концентрации меди и количества высвобождаемых ионов меди. Наиболее сильными антибактериальными свойствами обладают 1,5Cu-Ti скаффолды, которые содержат наибольшее количество меди с наибольшим Cu/Ti соотношением. Модифицированные 0,33Cu-Ti образцы не показали антибактериальных свойств, поскольку из них выделяется наименьшее количество ионов меди (Рисунок 5.12а). Это связано с тем, что медьсодержащие наночастицы и тонкие плёнки обладают антибактериальными свойствами [239–241], а увеличение концентрации меди в медно-титановых тонких плёнках их усиливает [236]. При этом, тонкие плёнки, состоящие в основном из титана, не обладают антибактериальными свойствами [236].

5.11. Цитотоксичность ПЛГА скаффолдов

На рисунке 5.16 приведены результаты исследований цитотоксичности немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов по отношению к клеткам NIH/3T3 (эмбриональные фибробласты мыши) и фибробластам десны человека.

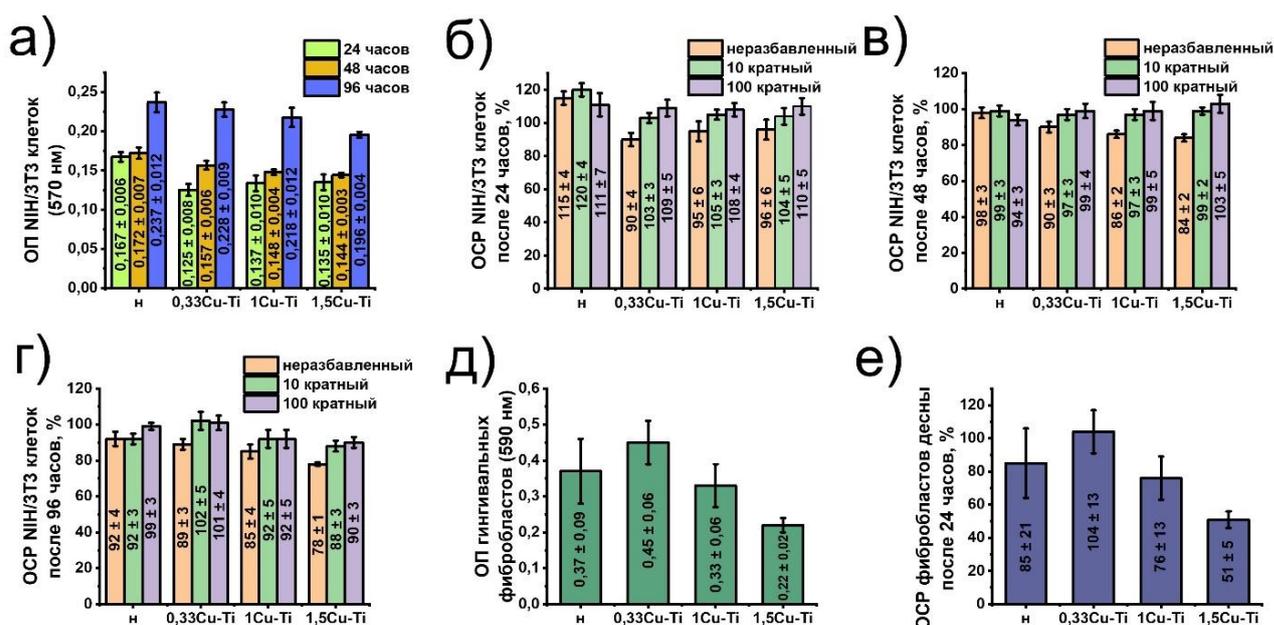


Рисунок 5.16 – Результаты исследований токсичности немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов: а) оптическая плотность (ОП) фибробластов NIH/3T3, инкубированных с экстрактами из ПЛГА в течение различного времени (24, 48 и 96 часов); б), в), г) относительная скорость роста (ОСР) фибробластов линии NIH/3T3, инкубированных с экстрактами из ПЛГА в течение 24 часов (б), 48 часов (в) и 96 часов (г); д) оптическая плотность (ОП) фибробластов десны человека, инкубированных с ПЛГА образцами в течение 24 часов; г) относительная скорость роста (ОСР) фибробластов десны человека, инкубированных с ПЛГА образцами в течение 24 часов

Основываясь на результатах оптической плотности (ОП) и относительной скорости роста (ОСР), немодифицированные ПЛГА скаффолды не токсичны для клеток NIH/3T3 (Рисунок 5.16а ÷ 5.16г) и фибробластов десны человека (Рисунок 5.16д и 5.16е). С увеличением времени инкубирования NIH/3T3 клеток с 24 до 96 часов значения оптической плотности увеличиваются в ~1,4 ÷ 1,8 раз (Рисунок 5.16а), что указывает на благоприятные условия роста NIH/3T3 клеток в пробирках с экстрактами из ПЛГА образцов. В соответствии с критериями классификации токсичности значение ОСР выше 75 % считается безопасным для клеток [242]. Значения ОСР для клеток NIH/3T3 превышает 75 % (Рисунок 5.16б – 5.16г), что

указывает на отсутствие токсичности немодифицированных и всех модифицированных ПЛГА образцов. По мере увеличения соотношения Cu/Ti, ОСР NIH/3T3 клеток слегка снижается в 1,07 раз для 0,33Cu-Ti скаффолдов и в 1,15 раз для 1,5Cu-Ti скаффолдов. При разбавлении экстрактов из ПЛГА в 10 и 100 раз значения ОСР увеличиваются и приближаются к значениям ОСР, наблюдаемых в экстрактах из немодифицированных ПЛГА скаффолдов ($88 \div 120\%$) (Рисунок 5.16б \div 5.16г). Таким образом, при внедрении модифицированных ПЛГА скаффолдов в живой организм они не будут негативно влиять на него, а выход меди с поверхности образцов будет способствовать подавлению бактерий. Причём антибактериальное действие модифицированных скаффолдов будет максимально проявляться в первые дни, поскольку её концентрация со временем уменьшается.

Результаты цитотоксичности модифицированных ПЛГА скаффолдов по отношению к фибробластам десны человека показали, что по мере увеличения соотношения Cu/Ti для модифицированных ПЛГА скаффолдов оптическая плотность (ОП) и относительная скорость роста (ОСР) значительно снижаются (Рисунок 5.16д и 5.16е). Образцы 0,33Cu-Ti с наименьшим соотношением Cu/Ti имеют значение ОСР в ~ 2 раза выше, чем образцы 1,5Cu-Ti с самым высоким соотношением Cu/Ti. Согласно критериям классификации токсичности, образец 1,5Cu-Ti со значением ОСР $51 \pm 5\%$ является цитотоксичным для фибробластов десны человека. Образцы 0,33Cu-Ti и 1Cu-Ti не цитотоксичны для фибробластов десны человека, поскольку они имеют значения ОСР $104 \pm 13\%$ и $76 \pm 13\%$, соответственно (Рисунок 5.16е).

Цитотоксичность образцов усиливается с увеличением содержания меди и Cu/Ti соотношения. Однако, все экстракты модифицированных образцов не показали цитотоксичность по отношению к клеткам NIH/3T3, и только 1,5Cu-Ti скаффолды с максимальным соотношением Cu/Ti показали цитотоксичные свойства по отношению к фибробластам десны человека. Рост цитотоксичности с увеличением количества меди и соотношения Cu/Ti на поверхности ПЛГА скаффолдов напрямую связан с увеличением количества и скорости выхода ионов меди из них (раздел 5.7). Полученные результаты коррелируют с работами [236,

243]. Так в [236] было показано, что количество высвобожденных ионов меди и цитотоксичность медно-титановых покрытий увеличивается с увеличением соотношения меди к титану (Cu/Ti).

На рисунке 5.17 представлены изображения клеток NIH/3T3, инкубированных в течении различного времени (24, 48 и 96 часов). Микрофотографии клеток были получены при увеличении $\times 500$.

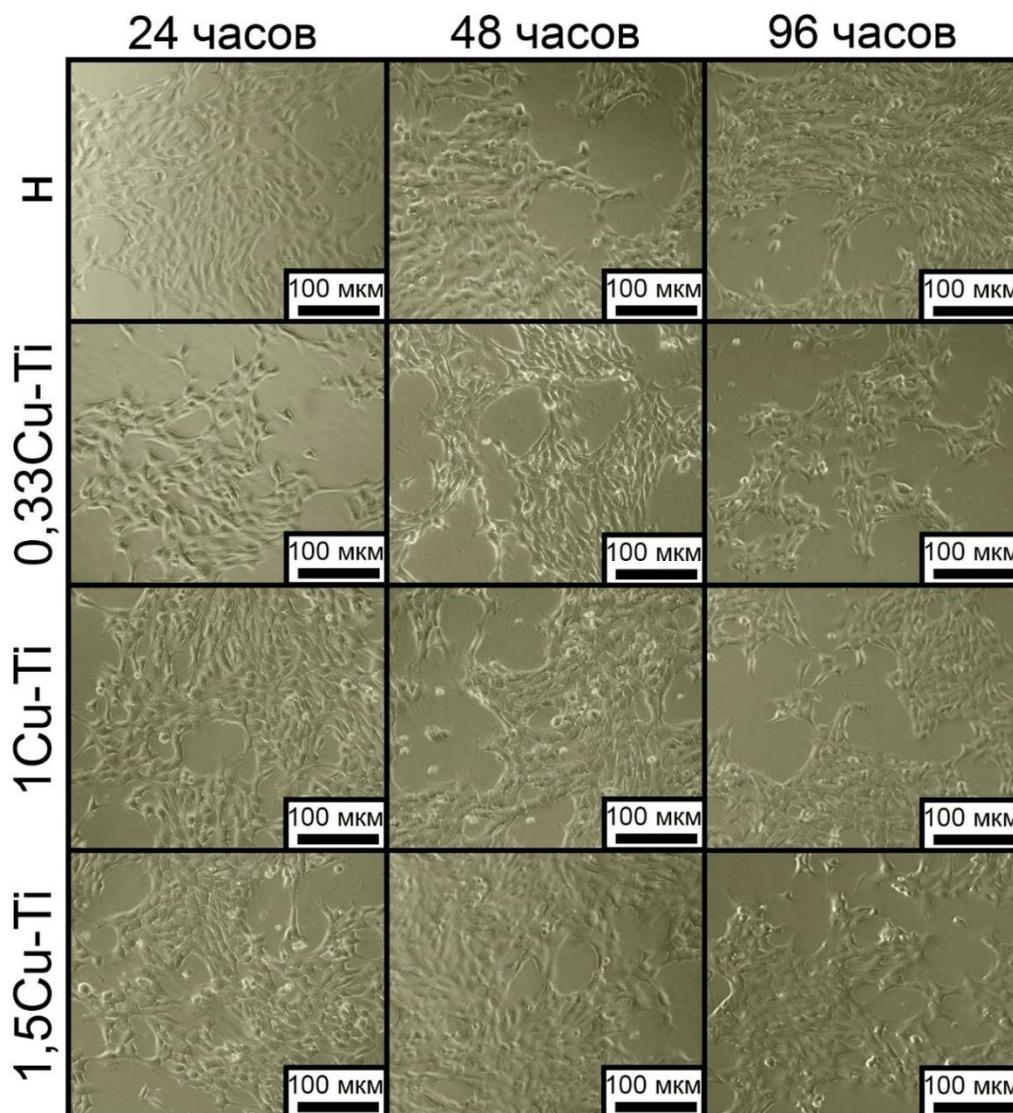


Рисунок 5.17 – Оптические микрофотографии NIH/3T3 клеток, инкубированных в течении 24 часов (слева), 48 часов (посередине) и 96 часов (справа) с экстрактами из немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti)

ПЛГА скаффолдов

Клетки NIH/3T3, несмотря на их контакт с экстрактами из немодифицированных (н) и модифицированных ПЛГА скаффолдов (0,33Cu-Ti,

1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti), многочисленны и обладают правильной морфологией (Рисунок 5.17). Эти результаты подтверждают отсутствие цитотоксических свойств у экстрактов из немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов по отношению к клеткам NIH/3T3. При этом клетки непосредственно не контактировали с поверхностью модифицированных скаффолдов, а взаимодействовали с ионами меди, которые выходили с поверхности образцов в питательную MEM среду (раздел 2.4.2). Следовательно, концентрации высвобожденных в среду ионов меди недостаточно для формирования цитотоксических свойств по отношению к клеткам NIH/3T3. Таким образом, плазменное модифицирование ПЛГА скаффолдов в выбранных режимах (Таблица 2.6) не влияет на морфологию клеток NIH/3T3 и их численность, и образцы не цитотоксичны.

5.12. Выводы по пятой главе

Методом электроспиннинга изготовлены полимерные скаффолды из поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА). ПЛГА скаффолды модифицированы медью и титаном методом одновременного магнетронного распыления. Результаты, полученные при исследовании модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов, были внедрены в научную деятельность ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук», акт внедрения приведен в Приложении В. Основываясь на результатах исследований физико-химических, антибактериальных и токсических свойств ПЛГА скаффолдов, сделаны следующие выводы:

1. На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 500$, и на АСМ изображениях, полученных при площади сканирования 40×40 мкм², было показано, что ПЛГА скаффолды состоят из хаотично переплетённых волокон. Средний диаметр немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА скаффолдов варьируется в диапазоне $(1,29 \div 1,41) \pm 0,57$ мкм. Средняя площадь пор и пористость образцов варьируются в диапазоне $(15,7 \div 18,9) \pm 14,8$ мкм² и $(83,2 \div 86,4) \pm 4,5$ %, соответственно. Шероховатость поверхности немодифицированных

и модифицированных ПЛГА скаффолдов при площади сканирования 40×40 мкм² варьируется в диапазоне $(680 \div 756) \pm 63$ нм. Модифицирование ПЛГА скаффолдов в выбранных режимах магнетронного распыления достоверно не изменяет средний диаметр волокон, среднюю площадь пор, пористость и шероховатость поверхности.

2. На СЭМ изображениях, полученных при увеличении $\times 15000$, и на АСМ изображениях, полученных при площади сканирования 1×1 мкм², показано, что отдельные волокна немодифицированных ПЛГА скаффолдов имеют гладкую поверхность. После модифицирования ПЛГА скаффолдов на их волокнах появляются сферические островки, что приводит к увеличению их шероховатости. Отдельные волокна немодифицированных (н) ПЛГА скаффолдов обладают шероховатостью $4,6 \pm 3,1$ нм. У модифицированных скаффолдов с наименьшим ($0,33\text{Cu-Ti}$) и средним (1Cu-Ti) Cu/Ti соотношением волокна имеют шероховатость $6,0 \pm 3,7$ нм и $5,6 \pm 2,9$ нм, соответственно. У образцов с наибольшим Cu/Ti соотношением ($1,5\text{Cu-Ti}$) волокна обладают наибольшей шероховатостью, которая составляет $8,8 \pm 2,9$ нм. Появление сферических островков на волокнах и увеличение их шероховатости указывает на трёхмерный островковый механизм роста плёнок.

3. При анализе элементного состава скаффолдов ЭДРС методом было показано, что соотношение C/O для немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов варьируется в узких пределах ($1,00 - 1,22$). Общая концентрация металлических компонент варьируется от $15,0$ до $15,5$ ат. %, что указывает на корректно выбранные режимы Cu-Ti модифицирования. Образцы $0,33\text{Cu-Ti}$ обладают наименьшим соотношением Cu/Ti ($1,08$), образец 1Cu-Ti – средним ($1,67$), а образцы $1,5\text{Cu-Ti}$ – наибольшим ($2,33$).

Анализ обзорного РФЭС спектра немодифицированных скаффолдов показывает, что элементное соотношение углерода к кислороду (C/O) составляет $1,98$. После плазменного модифицирования ПЛГА скаффолдов соотношение C/O уменьшалось и варьировалось в широких пределах $0,77 - 1,63$. У модифицированных $0,33\text{Cu-Ti}$ образцов соотношение Cu/Ti является наименьшим

(0,43), у 1Cu-Ti образцов Cu/Ti соотношение – средним (1,14), у 1,5Cu-Ti образцов Cu/Ti соотношение – наибольшим (1,37).

На рамановском спектре немодифицированных ПЛГА скаффолдов можно наблюдать три высокоинтенсивных пика с максимумами в точках 877, 1458 и 1775 см^{-1} . Интенсивность и расположение пиков характерны для нетканых ПЛГА скаффолдов. На спектре 1Cu-Ti образцов пиков не наблюдается, следовательно, медно-титановые тонкие плёнки полностью покрывают поверхность волокнистых скаффолдов.

4. При анализе химического состава ПЛГА скаффолдов методом РФЭС было выявлено, что после их модифицирования медью и титаном методом одновременного магнетронного распыления, на поверхности скаффолдов образуются металлосодержащие соединения из меди (Cu), оксидов меди ($\text{CuO}/\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO}$), гидроксида меди ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) и оксидов титана ($\text{TiO}/\text{TiO}_2/\text{Ti}_2\text{O}_3$). Появление таких компонент связано с тем, что химически активная поверхность модифицированных ПЛГА скаффолдов активно взаимодействует с кислородом из окружающего воздуха.

5. При исследовании морфологии и картирования элементов поперечного сечения ПЛГА скаффолдов было показано, что модифицированию подвергаются только приповерхностные слои ПЛГА скаффолдов, в то время как объём нетканого материала не подвергается модифицированию. Преимущественное модифицирование приповерхностных слоёв полимерных скаффолдов связано с эффектом затенения.

6. Значения краевых углов смачивания для немодифицированных и Cu-Ti модифицированных ПЛГА образцов варьируются в узком диапазоне $(121 \div 128) \pm 11^\circ$. После Cu-Ti модифицирования образцов значения краевых углов смачивания водой достоверно не изменялось. Таким образом, плазменное Cu-Ti модифицирование не влияет на смачивающие способности ПЛГА скаффолдов.

7. Значения предела прочности и максимального удлинения при разрыве для немодифицированных и модифицированных ПЛГА скаффолдов варьируются в диапазонах $(3,4 \div 3,7) \pm 0,3$ МПа и $(476 \div 532) \pm 67$ %, соответственно. Плазменное

модифицирование методом одновременного магнетронного распыления достоверно не влияет на предел прочности ПЛГА скаффолдов и на максимальное удлинение при разрыве. Сохранение механических свойств ПЛГА скаффолдов после модифицирования, вероятнее всего, связано с преимущественным модифицированием только их приповерхностных слоёв.

8. Термогравиметрическим анализом показано, что средний вес немодифицированных ПЛГА скаффолдов (n) составляет $3,22 \pm 0,78$ мг. Средние веса модифицированных 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti скаффолдов составляют $3,83 \pm 0,91$ мг, $3,81 \pm 1,21$ мг и $3,54 \pm 1,02$ мг, соответственно. После проведения термогравиметрического анализа немодифицированные ПЛГА скаффолды полностью сгорали в воздушной атмосфере, в то время как у модифицированных 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолдов наблюдалась остаточная масса: $0,31 \pm 0,24$ мг ($8,2 \pm 7,5\%$); $0,27 \pm 0,18$ мг ($7,1 \pm 4,7\%$) и $0,23 \pm 0,21$ мг ($6,4 \pm 5,0\%$), соответственно. Это указывает на то, что во время модифицирования на поверхность ПЛГА волокон осаждаются плёнки из титана и меди, относительный вес которых составлял $(6,4 \div 8,2) \pm 7,5\%$ от всего веса модифицированных ПЛГА образцов. Вес металлических тонких пленок на поверхности модифицированных ПЛГА скаффолдов достоверно не изменяется и не зависит от применяемых рабочих параметров модифицирования.

8. Максимальное количество ионов меди у 1,5Cu-Ti скаффолдов составляет $2,41 \pm 0,13$ мг/л, что в 1,5 и 24 раза выше, чем количество ионов меди для 1Cu-Ti и 0,33Cu-Ti образцов, соответственно. Максимальная скорость выхода ионов меди наблюдалась у 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолдов по истечении 30 минут (0 дней) и составляла $0,96 \pm 0,20$ мг/(л·дни), $2,02 \pm 0,82$ мг/(л·дни) и $2,69 \pm 0,62$ мг/(л·дни), соответственно. Увеличение соотношения Cu/Ti у модифицированных ПЛГА скаффолдов существенно увеличивает количество и скорость выхода ионов меди.

9. При исследовании морфологии и элементарного картирования поверхности ПЛГА скаффолдов было показано, что элементы меди (Cu), титана (Ti) и кислорода (O) полностью покрывают поверхность волокон скаффолдов, а на

изображениях при картировании этих элементов можно наблюдать контуры отдельных волокон. Это подтверждают, что на поверхности отдельных волокон образуются тонкая пленка из оксидов меди и титана.

10. Немодифицированные и модифицированные 0,33Cu-Ti скаффолды не обладают антибактериальными свойствами. С увеличением длительности инкубирования (от 6 до 24 часов) индикатор антибактериальной активности модифицированных 1Cu-Ti скаффолдов уменьшается с $61 \pm 10 \%$ до $40 \pm 8 \%$, что указывает на увеличение количества колоний МРЗС с 820 ± 140 КОЕ/мл до 1250 ± 240 КОЕ/мл. Для 1,5Cu-Ti образцов с увеличением длительности инкубирования (от 6 до 24 часов) индикатор антибактериальной активности уменьшается с $93 \pm 13 \%$ до $62 \pm 7 \%$, что соответствует увеличению колоний МРЗС с 140 ± 20 КОЕ/мл до 790 ± 90 КОЕ/мл. Антибактериальная активность модифицированных ПЛГА скаффолдов усиливается с увеличением концентрации меди и количества высвобождаемых ионов меди с их поверхности.

12. Немодифицированные и модифицированные ПЛГА скаффолды не цитотоксичны по отношению к NIH/3T3 клеткам, поскольку их относительная скорость роста превышала 75 %. Образец 1,5Cu-Ti с относительной скоростью роста $51 \pm 5 \%$ является цитотоксичным по отношению к фибробластам десны человека, 0,33Cu-Ti и 1Cu-Ti образцы с относительной скоростью роста $104 \pm 13 \%$ и $76 \pm 13 \%$ не токсичны для таких клеток. Цитотоксичность образцов усиливается с увеличением содержания меди и Cu/Ti соотношения.

ГЛАВА 6. Программа для ЭВМ, предназначенная для моделирования антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента

6.1 Моделирование антибактериальных свойств ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления меди

В рамках главы «3 Внешний вид, морфология, физико-химические, структурные, антибактериальные и биологические свойства ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных методом магнетронного распыления меди» было показано, что модифицированные медью мембраны в течение 15, 30, 60 и 120 секунд позволяют подавлять численность патогенных микроорганизмов (*S.Aureus*) на $20,1 \pm 2,8\%$, $37,8 \pm 7,5\%$, $89,2 \pm 13,7\%$ и $99,7 \pm 5,4\%$, соответственно (Рисунок 3.12б). С увеличением длительности модифицирования на поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран концентрация меди увеличивается. Методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии было показано, что концентрация меди на модифицированных в течение 30, 60 и 120 секунд образцов составляет: $5,6 \pm 0,3$ ат. %, $7,6 \pm 0,4$ ат. % и $10,6 \pm 0,5$ ат. %, соответственно (Рисунок 3.3). Такие экспериментальные данные концентрации меди и антибактериальной активности ВДФ-ТеФЭ образцов с целью построения модельной кривой были использованы в разработанной программе для ЭВМ. Закономерности, на которых основана программа, приведены в разделе 2.5.

На рисунке 6.1 представлены результаты работы программы прогнозирования антибактериальных свойств для модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран.

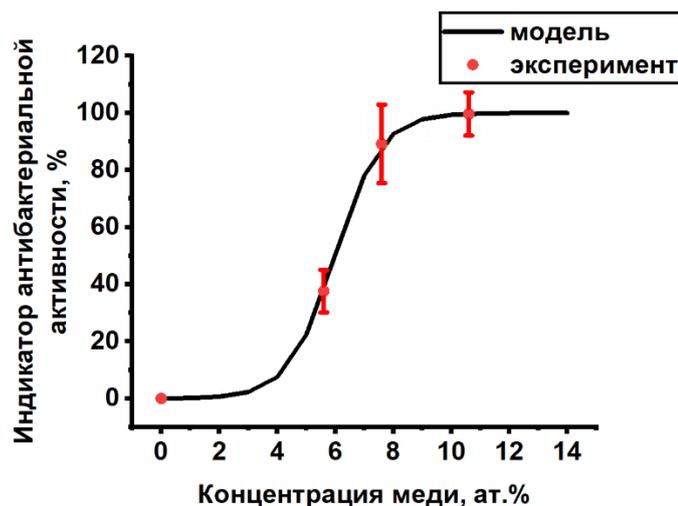


Рисунок 6.1 – График изменения индикатора антибактериальной активности в зависимости от концентрации меди на модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембранах. Экспериментальные данные (красные точки – эксперимент) и аппроксимирующая кривая для них (чёрная линия – модель)

Из рисунка 6.1 видно, что аппроксимирующая кривая, построенная с помощью разработанной программы, коррелирует с экспериментальными данными, полученными при исследовании антибактериальной активности модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран (Рисунок 6.1). Такая модельная кривая была получена при подборке в аппроксимирующую сигмоидальную функцию 2.13 следующих калибровочных коэффициентов: $a = 1,259$ и $b = 5,986$.

6.2 Моделирование антибактериальных свойств ПЛГА скаффолдов, модифицированных методом одновременного магнетронного распыления меди и титана

По данным энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии относительная концентрация меди у ПЛГА образцов с наименьшим, средним и наибольшим соотношением составила $7,8 \pm 1,4$ ат. %, $9,7 \pm 1,3$ ат. % и $10,5 \pm 2,3$ ат. %, соответственно (Рисунок 5.4). Антибактериальная активность у образцов с наименьшим (0,33Cu-Ti), средним (1Cu-Ti) и наибольшим (1,5Cu-Ti) содержанием меди при их инкубировании с метициллин-резистентным золотистым стафилококком (МРЗС) в течение 6 часов была равной 14 ± 2 %, 61 ± 10 %, 93 ± 13 %, соответственно (Рисунок 5.15б). При инкубировании в течение 12 часов

индикаторы антибактериальной активности составили 0 %, 46 ± 6 %, 70 ± 5 % для образцов с наименьшим, средним и наибольшим соотношением меди к титану, соответственно (Рисунок 5.15б). При 24 часах инкубирования индикаторы антибактериальной активности оказались равны 0 %, 40 ± 8 %, 62 ± 7 % для 0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti и 1,5Cu-Ti образцов, соответственно. Такие значения концентрации меди и антибактериальных свойств ПЛГА скаффолдов, модифицированных медью и титаном, были использованы в программе для построения кривых, позволяющих прогнозировать экспериментальные данные.

На рисунке 6.2 отображены результаты моделирования антибактериальных свойств немодифицированных и модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов.

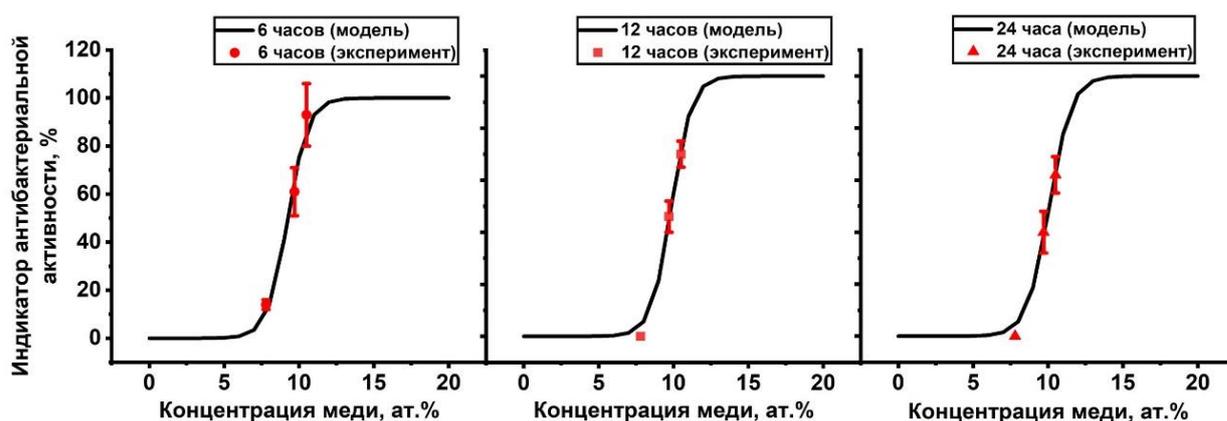


Рисунок 6.2 – Графики зависимостей индикаторов антибактериальной активности ПЛГА скаффолдов от концентрации меди в них. На графиках представлены экспериментальные данные индикаторов, полученные при инкубировании ПЛГА с МРЗС в течение 6 (слева), 12 (посередине) и 24 часов (справа) (красные точки), и модельные кривые (чёрные линии)

При различных временах инкубирования МРЗС для сигмоидальной функции 2.13, позволяющей прогнозировать антибактериальную активность, были подобраны калибровочные коэффициенты, дающие хорошее совпадение результатов моделирования с экспериментальными данными антибактериальной активности модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов: 6 часов – $a = 1,4776$; $b = 9,252$, 12 часов – $a = 1,504$; $b = 9,871$, 24 часа – $a = 1,356$; $b = 10,080$.

6.3. Моделирование антибактериальных свойств металлических скаффолдов, насыщенных тетрациклином

Разработанная программа позволяет прогнозировать антибактериальные свойства не только нетканых материалов, модифицированных тонкими металлическими пленками, но и других материалов медицинского назначения.

Так для моделирования использовались результаты работы [244], в которой были исследованы антибактериальные свойства скаффолдов из магния и цинка, погружённых в раствор тетрациклина в дистиллированной воде в течение 5 минут. Растворы содержали 10, 50 и 100 миллиграмм тетрациклина на 100 миллилитров воды. Антибактериальную активность полученных образцов оценивали с использованием грамположительного золотистого стафилококка (*S.Aureus*, ATCC 12600) и грамотрицательной кишечной палочки (*E.Coli*, ATCC 9637). В работе анализировались данные о подавлении бактерий после 24 часов их помещения в культуру с бактериями.

На рисунке 6.3 представлены результаты моделирования антибактериальных свойств скаффолдов из магния и цинка, погруженных в водные растворы с тетрациклином при различной концентрации антибиотика (1, 5 и 10 %).

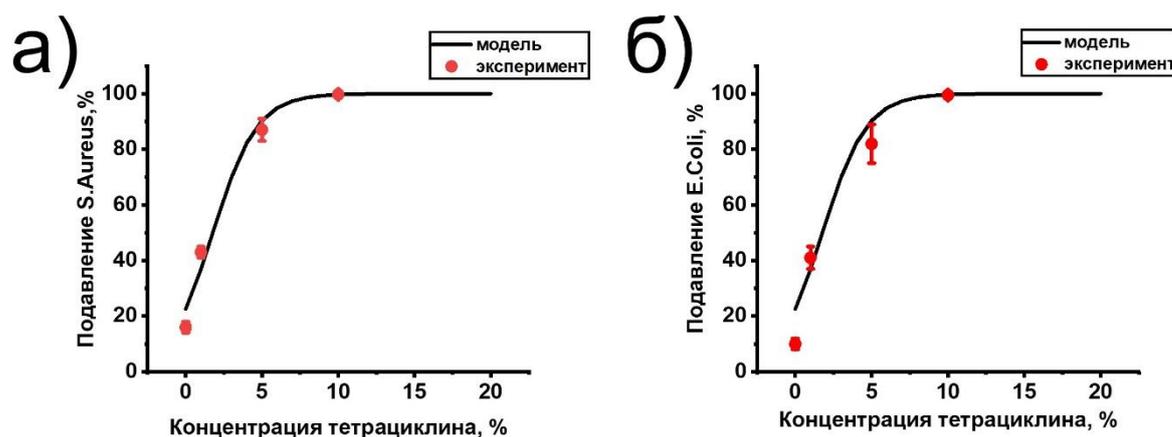


Рисунок 6.3 – Графики зависимостей антибактериальной активности при различных относительных концентрациях тетрациклина в скаффолдах из магния и цинка. На графиках представлены данные эксперимента (красные точки) и смоделированные кривые (чёрные линии) для двух видов бактерий: а) *S.Aureus*, б) *E.Coli*

Разработанная программа для ЭВМ позволяет аппроксимировать степень подавления бактерий при использовании металлических скаффолдов с различным содержанием тетрациклина (Рисунок 6.3). Для сигмоидальной функции 2.13 при построении модельных кривых подавления численности *S.Aureus* и *E.Coli* были найдены следующие калибровочные коэффициенты: *S.Aureus* – $a = 0,6924$; $b = 1,7797$; *E.Coli* – $a = 0,6276$; $b = 2,213$.

6.4. Моделирование антибактериальных свойств наночастиц серебра

Также разработанная программа использовалась для моделирования антибактериальных свойств наночастиц серебра (AgНЧс) со средним размером ~ 11 нм. Антибактериальная активность AgНЧс в зависимости от их концентрации в микрограммах на миллилитр в солевом буферном растворе (PBS) исследовалась на грамположительном золотистом стафилококке (*S.Aureus*) и на грамотрицательной синегнойной палочке (*P. Aeruginosa*) [245]. Были изучены следующие значения концентрации наночастиц серебра в PBS 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 и 2 мкг/мл.

На рисунке 6.4 представлены результаты моделирования антибактериальных свойств наночастиц серебра в зависимости от их концентрации в буферном солевом растворе.

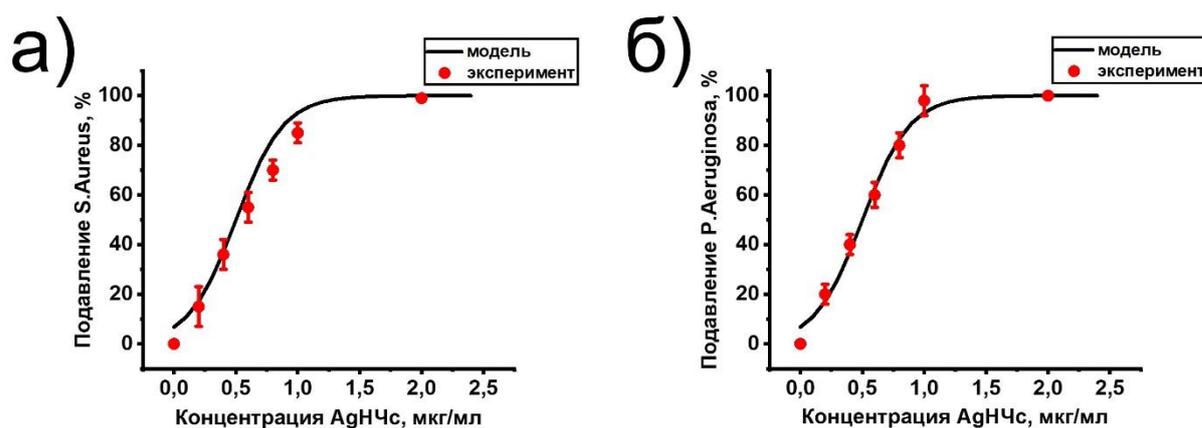


Рисунок 6.4 – Графики зависимостей антибактериальной активности наночастиц серебра от их относительной концентрации в PBS. На графиках представлены данные эксперимента (красные точки) и смоделированные кривые (чёрные линии) для двух видов бактерий: а) *S.Aureus*, б) *P.Aeruginosa*

Построенные кривые позволяют хорошо прогнозировать экспериментальные значения зависимости подавления численности бактерий от концентрации наночастиц в PBS (Рисунок 6.4). Для сигмоидальной функции 2.13 были найдены следующие коэффициенты: *S.Aureus* – $a = 0,4387$; $b = 5,741$; *P.Aeruginosa* – $0,5233$; $5,016$.

6.5. Выводы по шестой главе

Разработанная программа для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств композитных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента» позволяет прогнозировать антибактериальные свойства различных материалов (полимерных нетканых материалов, модифицированных тонкими металлическими плёнками, металлических скаффолдов с антибиотиками, металлических наночастиц). По результатам сравнения экспериментальных результатов с модельными кривыми антибактериальной активности был сделан вывод о том, что программа для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств композитных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента» позволяет с помощью сигмоидальной формулы $AA = \left(\frac{1}{1 + e^{-a(x-b)}} \right) \cdot 100\%$ прогнозировать антибактериальную активность:

1. Модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран с коэффициентами: $a = 1,259$; $b = 5,986$.

2. Модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов в зависимости от количества меди в них при 6 часах инкубирования с МРЗС, коэффициенты $a = 1,4776$; $b = 9,252$; при 12 часах инкубирования с МРЗС, коэффициенты $a = 1,504$; $b = 9,871$; при 24 часах инкубирования с МРЗС, коэффициенты $a = 1,356$; $b = 10,080$.

3. Металлических скаффолдов с различным содержанием тетрациклина и при использовании наночастиц серебра в фосфатно-солевом буфере.

Следовательно, разработанная программа может быть использована для лечения и медицинской реабилитации заболеваний и прогнозирования

антибактериальных свойств различных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента, что позволяет оптимизировать лечебные процессы с применением материалов медицинского назначения с биоактивными агентами.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. При модифицировании ВДФ-ТеФЭ мембран методом магнетронного распыления меди на их поверхности образуются медь (Cu) и медьсодержащие химические соединения: Cu_2O , CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuF_2 . ВДФ-ТеФЭ мембраны, модифицированные в течение 60 и 120 секунд, подавляют численность *S. Aureus* на $89,2 \pm 13,7\%$ и на $99,7 \pm 5,4\%$, соответственно, что указывает на их высокие антибактериальные свойства.

2. Наибольшая скорость заживления дефектов слизистой оболочки губ крыс *in vivo* наблюдалась при использовании ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных медью в течение 120 секунд (группа – 120). В то время как заживление дефектов без (группа – Без) и с применением немодифицированных мембран (группа – н) проходило медленнее (на 7-ой день эксперимента площадь раневой поверхности была в 1,5 и в 2,5 раза меньше у крыс группы «120», чем у лабораторных животных групп «н» и «Без», соответственно).

3. На поверхности ПЛГА скаффолдов, модифицированных в плазме магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени, формируются соединения титана с кислородом (TiO , TiO_2 , Ti_2O_3) и карбид титана (TiC), что приводит к значительному уменьшению краевого угла смачивания водой с $(116 \div 118) \pm 3^\circ$ до 0° и возникновению у скаффолдов сорбирующих свойств. Плазменное модифицирование титаном позволяет существенно усилить биосовместимые свойства ПЛГА скаффолдов, так численность фибробластов десны человека оказалась выше в ~ 7 раз на модифицированных скаффолдах, чем на немодифицированных.

5. В результате одновременного распыления медной и титановой мишеней на поверхности ПЛГА скаффолдов образуются соединения меди и титана с кислородом: Cu_2O , CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, TiO , Ti_2O_3 , TiO_2 . На скаффолдах со средним соотношением меди к титану (Cu/Ti , группа образцов – 1Cu/Ti) количество метициллин-резистентного золотистого стафилококка уменьшается на $(40 \div 61) \pm 10\%$, а на скаффолдах с наибольшим соотношением Cu/Ti (группа – $1,5\text{Cu/Ti}$)

уменьшается на $(62 \div 93) \pm 13\%$. Относительная скорость роста NIH/3T3 клеток для всех немодифицированных и модифицированных методом одновременного распыления PLLGA скаффолдов оказалась выше 75%, что свидетельствует об отсутствии у скаффолдов цитотоксических свойств NIH/3T3.

6. Установлено, что у модифицированных PLLGA скаффолдов с наибольшим соотношением Cu/Ti (1,5) наблюдается наименьшая ОСР фибробластов десны человека ($51 \pm 5\%$). У немодифицированных скаффолдов и скаффолдов с меньшим соотношением Cu/Ti (0,33 и 1) ОСР составляет выше 75%, что указывает на то, что образцы с максимальным содержанием меди обладают цитотоксичными свойствами по отношению к фибробластам десны человека.

7. Кривые антибактериальной активности (АА), смоделированные с применением разработанной программы для ЭВМ, использующей сигмоидальную функцию $AA = \left(\frac{1}{1 + e^{-a(x-b)}} \right) \cdot 100\%$, хорошо коррелируют с экспериментальными данными при инкубировании бактерий на поверхности модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембран и PLLGA скаффолдов. При этом для ВДФ-ТеФЭ мембран калибровочные коэффициенты составили: $a = 1,259$; $b = 5,986$; а для PLLGA скаффолдов: $a = 1,4776$; $b = 9,252$ (при 6 часах инкубирования); $a = 1,504$; $b = 9,871$ (при 12 часах инкубирования) и $a = 1,356$; $b = 10,080$ (при 24 часах инкубирования).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках диссертационной работы была продемонстрирована возможность плазменного модифицирования мембран на основе биостабильного сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТеФЭ) и скаффолдов из биodeградируемого сополимера поли(L-лактида-со-гликолида) (ПЛГА) методами магнетронного и одновременного магнетронного распыления.

Технологические режимы плазменного модифицирования, рассмотренные в диссертации, позволяют сохранять волокнистую морфологию поверхности (средний диаметр волокон, средняя площадь пор, пористость) и механические свойства различных по химическому составу и морфологии полимерных мембран и скаффолдов.

Научным результатом работы является развитие фундаментальных представлений о влиянии процессов плазменного модифицирования на структурно-морфологические, физико-химические и медико-биологические свойства нетканых материалов на основе биостабильных и биорезорбируемых полимеров. В рамках работы предложена модель роста тонких плёнок на поверхности волокнистых материалов с диаметрами волокон от нескольких сотен нанометров до нескольких микрон при их модифицировании в плазме магнетронного разряда. Было показано, что тонкие плёнки наносятся непосредственно на поверхность волокон нетканых материалов.

Медико-технические требования к полимерным мембранам и скаффолдам были разработаны на основании анализа литературных данных, нормативных документов и результатов исследований, проведенных совместно с Институтом физики прочности и материаловедения СО РАН. Медико-технические требования приведены в Приложении Г.

На основании результатов глав 3, 4 и 5 можно сделать вывод, что полученные мембраны и скаффолды с модифицированной поверхностью удовлетворяют медико-техническим требованиям, а результаты доклинических экспериментов *in vitro*, *in vivo* и акты внедрения в научную деятельность ФГБУН «Институт

цитологии Российской академии наук» (Приложение Б), ФГБУН «Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук» (Приложение В), ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» (Приложение А) подтверждают высокую заинтересованность в разработанных нетканых материалах.

В рамках совместного семинара научных коллективов Томского Политехнического университета и Сибирского государственного медицинского университета была подтверждена актуальность использования ПЛГА скаффолдов, модифицированных титаном и медью/титаном, как медицинских изделий, предназначенных для лечения рецессии дёсен (Приложение Д).

Результаты диссертационной работы были внедрены в учебный процесс Инженерной школы ядерных технологий, НОЦ Б.П. Вейнберга при изучении дисциплины «Пучковое и плазменное модифицирование поверхности», преподаваемой студентам, обучающимся по специальности 14.03.02 «Ядерная физика и технологии». Акт внедрения в учебный процесс приведен в Приложении Е.

Практическим результатом диссертационной работы является доказанная эффективность модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран для регенерации слизистых оболочек полости рта *in vivo*. Такая эффективность связана с приданием мембранам антибактериальных свойств после модифицирования. Также доказана эффективность использования модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов посредством исследования их биосовместимости с фибробластами десны человека *in vitro*, что связано с улучшением смачивающих свойств скаффолдов после нанесения на них титановой плёнки. Более того, было показано, что можно управлять биологическими и антибактериальными свойствами модифицированных ПЛГА скаффолдов посредством изменения соотношения меди к титану на их поверхности.

Результаты моделирования с использованием разработанной программы для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств композитных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента» совпадают с

экспериментальными данными. Следовательно, программа может быть использована для лечения и медицинской реабилитации заболеваний и прогнозирования антибактериальных свойств различных материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента, что позволяет оптимизировать лечебные процессы с применением материалов медицинского назначения с биоактивными агентами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ciano, J. Regional Quantitative Histological Variations in Human Oral Mucosa / J. Ciano, B.L. Beatty // *The Anatomical Record* – 2015. – Т. 298 – № 3 – С.562–578.
2. Squier, C.A. Biology of Oral Mucosa and Esophagus / C.A. Squier, M.J. Kremer // *JNCI Monographs* – 2001. – Т. 2001 – № 29 – С.7–15.
3. Winning, T.A. Oral mucosal embryology and histology / T.A. Winning, G.C. Townsend // *Clinics in Dermatology* – 2000. – Т. 18 – № 5 – С.499–511.
4. Luo, Z. Thermogelling chitosan-based polymers for the treatment of oral mucosa ulcers / Z. Luo, K. Xue, X. Zhang, J.Y.C. Lim, X. Lai, D.J. Young, Z.-X. Zhang, Y.-L. Wu, X.J. Loh // *Biomaterials Science* – 2020. – Т. 8 – № 5 – С.1364–1379.
5. Guo, Y. Polyphenols in Oral Health: Homeostasis Maintenance, Disease Prevention, and Therapeutic Applications / Y. Guo, Z. Li, F. Chen, Y. Chai // *Nutrients* – 2023. – Т. 15 – № 20 – С.4384.
6. Belenguer-Guallar, I. Treatment of recurrent aphthous stomatitis. A literature review / I. Belenguer-Guallar, Y. Jimenez-Soriano, A. Claramunt-Lozano // *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* – 2014. – С.e168-74.
7. Toma, A.I. Oral wound healing models and emerging regenerative therapies / A.I. Toma, J.M. Fuller, N.J. Willett, S.L. Goudy // *Translational Research* – 2021. – Т. 236 – С.17–34.
8. Wolff, J. Soft Tissue Augmentation Techniques and Materials Used in the Oral Cavity / J. Wolff, E. Farré-Guasch, G.K. Sándor, S. Gibbs, D.J. Jager, T. Forouzanfar // *Implant Dentistry* – 2016. – Т. 25 – № 3 – С.427–434.
9. Moharamzadeh, K. Tissue-engineered Oral Mucosa / K. Moharamzadeh, H. Colley, C. Murdoch, V. Hearnden, W.L. Chai, I.M. Brook, M.H. Thornhill, S. MacNeil // *Journal of Dental Research* – 2012. – Т. 91 – № 7 – С.642–650.

10. Ray, R.R. Periodontitis: An Oral Disease with Severe Consequences / R.R. Ray // *Applied Biochemistry and Biotechnology* – 2023. – T. 195 – № 1 – C.17–32.
11. Moussa, E.W. Comparative Outcomes of Miller Class III Gingival Recession Treatment Using the Tunnel or Coronally Advanced Flap Approach: A Case Report / E.W. Moussa, N.F. Bissada // *Clinical Advances in Periodontics* – 2017. – T. 7 – № 1 – C.35–41.
12. Tugnait, A. Gingival recession—its significance and management / A. Tugnait, V. Clerehugh // *Journal of Dentistry* – 2001. – T. 29 – № 6 – C.381–394.
13. Patel, M. Gingival recession: part 1. Aetiology and non-surgical management / M. Patel, P.J. Nixon, M.F.W.-Y. Chan // *British Dental Journal* – 2011. – T. 211 – № 6 – C.251–254.
14. Imber, J.-C. Treatment of Gingival Recession: When and How? / J.-C. Imber, A. Kasaj // *International Dental Journal* – 2021. – T. 71 – № 3 – C.178–187.
15. Lauer, G. Mucosa Tissue Engineering / G. Lauer // *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* – Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg – C.369–380.
16. Kinikoglu, B. Tissue engineering of oral mucosa: a shared concept with skin / B. Kinikoglu, O. Damour, V. Hasirci // *Journal of Artificial Organs* – 2015. – T. 18 – № 1 – C.8–19.
17. Danesh-Meyer, M.J. Gingival recession defects and guided tissue regeneration: a review / M.J. Danesh-Meyer, U.M.E. Wikesjö // *Journal of Periodontal Research* – 2001. – T. 36 – № 6 – C.341–354.
18. Monnet-Corti, V. Vestibular frenectomy in periodontal plastic surgery / V. Monnet-Corti, A. Antezack, V. Moll // *Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics* – 2018. – T. 21 – № 2 – C.205.

19. Chambrone, L. Rationale for Gingival Tissue Augmentation and Vestibuloplasty Around Teeth and Dental Implants / L. Chambrone, F.S.G. Valenzuela, L. Oliveira // *Advances in Periodontal Surgery* – Cham: Springer International Publishing, 2020. – C.157–176.
20. Bertl, K. Relative Composition of Fibrous Connective and Fatty/Glandular Tissue in Connective Tissue Grafts Depends on the Harvesting Technique but not the Donor Site of the Hard Palate / K. Bertl, M. Pifl, L. Hirtler, B. Rendl, S. Nürnberger, A. Stavropoulos, C. Ulm // *Journal of Periodontology* – 2015. – T. 86 – № 12 – C.1331–1339.
21. Cho, K.-H. Histological assessment of the palatal mucosa and greater palatine artery with reference to subepithelial connective tissue grafting / K.-H. Cho, S.-K. Yu, M.-H. Lee, D.-S. Lee, H.-J. Kim // *Anatomy & Cell Biology* – 2013. – T. 46 – № 3 – C.171.
22. Schmitt, C.M. Soft tissue volume alterations after connective tissue grafting at teeth: the subepithelial autologous connective tissue graft versus a porcine collagen matrix - a pre-clinical volumetric analysis / C.M. Schmitt, R.E. Matta, T. Moest, J. Humann, L. Gammel, F.W. Neukam, K.A. Schlegel // *Journal of Clinical Periodontology* – 2016. – T. 43 – № 7 – C.609–617.
23. Tucker, N. The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995 / N. Tucker, J.J. Stanger, M.P. Staiger, H. Razzaq, K. Hofman // *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* – 2012. – T. 7 – № 2_suppl – C.155892501200702.
24. Teo, W.E. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies / W.E. Teo, S. Ramakrishna // *Nanotechnology* – 2006. – T. 17 – № 14 – C.R89–R106.
25. Persano, L. Industrial Upscaling of Electrospinning and Applications of Polymer Nanofibers: A Review / L. Persano, A. Camposeo, C. Tekmen, D. Pisignano // *Macromolecular Materials and Engineering* – 2013. – T. 298 – № 5 – C.504–520.

26. Garg, K. Electrospinning jets and nanofibrous structures Electrospinning jets and nanofibrous structures / K. Garg, G.L. Bowlin, K. Garg, G.L. Bowlin 2014. – T. 013403 – № 2011.
27. Chronakis, I.S. Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process—A review / I.S. Chronakis // Journal of Materials Processing Technology – 2005. – T. 167 – № 2–3 – C.283–293.
28. Ko, J. Mathematical model for predicting topographical properties of poly (ϵ -caprolactone) melt electrospun scaffolds including the effects of temperature and linear transitional speed / J. Ko, N.K. Mohtaram, P.C. Lee, S.M. Willerth, M.B.G. Jun // Journal of Micromechanics and Microengineering – 2015. – T. 25 – № 4 – C.045018.
29. Bhardwaj, N. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique / N. Bhardwaj, S.C. Kundu // Biotechnology Advances – 2010. – T. 28 – № 3 – C.325–347.
30. Zhang, X. Electrospun nanofibers for manipulating soft tissue regeneration / X. Zhang, Y. Meng, B. Gong, T. Wang, Y. Lu, L. Zhang, J. Xue // Journal of Materials Chemistry B – 2022. – T. 10 – № 37 – C.7281–7308.
31. Qian, C. Vascularized silk electrospun fiber for promoting oral mucosa regeneration / C. Qian, T. Xin, W. Xiao, H. Zhu, Q. Zhang, L. Liu, R. Cheng, Z. Wang, W. Cui, Z. Ge // NPG Asia Materials – 2020. – T. 12 – № 1 – C.39.
32. Elshazly, N. Efficacy of Bioactive Glass Nanofibers Tested for Oral Mucosal Regeneration in Rabbits with Induced Diabetes / N. Elshazly, A. Khalil, M. Saad, M. Patrino, J. Chakraborty, M. Marei // Materials – 2020. – T. 13 – № 11 – C.2603.
33. Ngadiman, N.H.A. A review of evolution of electrospun tissue engineering scaffold: From two dimensions to three dimensions / N.H.A. Ngadiman, M. Noordin, A. Idris, D. Kurniawan // Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine – 2017. – T. 231 – № 7 – C.597–616.
34. Xu, Y. ECM-inspired micro/nanofibers for modulating cell function and

tissue generation / Y. Xu, G. Shi, J. Tang, R. Cheng, X. Shen, Y. Gu, L. Wu, K. Xi, Y. Zhao, W. Cui, L. Chen // *Science Advances* – 2020. – T. 6 – № 48.

35. Chen, L. A human-like collagen/chitosan electrospun nanofibrous scaffold from aqueous solution: Electrospun mechanism and biocompatibility / L. Chen, C. Zhu, D. Fan, B. Liu, X. Ma, Z. Duan, Y. Zhou // *Journal of Biomedical Materials Research Part A* – 2011. – T. 99A – № 3 – C.395–409.

36. Agarwal, S. Use of electrospinning technique for biomedical applications / S. Agarwal, J.H. Wendorff, A. Greiner // *Polymer – Elsevier Ltd*, 2008. – T. 49 – № 26 – C.5603–5621.

37. Reneker, D.H. Electrospinning jets and polymer nanofibers / D.H. Reneker, A.L. Yarin // *Polymers with aligned carbon nanotubes: Active composite materials – Elsevier Ltd*, 2008. – T. 49 – № 10 – C.2387–2425.

38. Raza, Z.A. Recent developments in polysaccharide-based electrospun nanofibers for environmental applications / Z.A. Raza, S.A. Munim, A. Ayub // *Carbohydrate Research* – 2021. – T. 510 – C.108443.

39. Bolbasov, E.N. The investigation of the production method influence on the structure and properties of the ferroelectric nonwoven materials based on vinylidene fluoride – tetrafluoroethylene copolymer / E.N. Bolbasov, K.S. Stankevich, E.A. Sudarev, V.M. Bouznic, V.L. Kudryavtseva, L.V. Antonova, V.G. Matveeva, Y.G. Anissimov, S.I. Tverdokhlebov // *Materials Chemistry and Physics* – 2016. – T. 182 – C.338–346.

40. Ico, G. Size-dependent piezoelectric and mechanical properties of electrospun P(VDF-TrFE) nanofibers for enhanced energy harvesting / G. Ico, A. Showalter, W. Bosze, S.C. Gott, B.S. Kim, M.P. Rao, N. V. Myung, J. Nam // *Journal of Materials Chemistry A* – 2016. – T. 4 – № 6 – C.2293–2304.

41. Eberle, G. Piezoelectric polymer electrets / G. Eberle, H. Schmidt, W. Eisenmenger // *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation* – 1996. – T. 3

– № 5 – C.624–646.

42. Bera, B. Piezoelectricity in PVDF and PVDF Based Piezoelectric Nanogenerator: A Concept / B. Bera, M. Das Sarkar // IOSR Journal of Applied Physics – 2017. – T. 09 – № 03 – C.95–99.

43. VALENTINI, R. Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fibre outgrowth In vitro / R. VALENTINI, T. VARGO, J. GARDELLAJR, P. AEBISCHER // Biomaterials – 1992. – T. 13 – № 3 – C.183–190.

44. Badaraev, A.D. Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa / A.D. Badaraev, A. Konjaeva, S.A. Krikova, E. V. Shesterikov, E.N. Bolbasov, A.L. Nemykina, V.M. Bouzник, K.S. Stankevich, Y.M. Zhukov, I.P. Mishin, E.Y. Varakuta, S.I. Tverdokhlebov // Applied Surface Science – Elsevier B.V., 2020. – T. 504 – C.144068.

45. Houchin, M.L. Chemical Degradation of Peptides and Proteins in PLGA: A Review of Reactions and Mechanisms / M.L. Houchin, E.M. Topp // Journal of Pharmaceutical Sciences – 2008. – T. 97 – № 7 – C.2395–2404.

46. Pan, Z. Poly(lactide- co -glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine / Z. Pan, J. Ding // Interface Focus – 2012. – T. 2 – № 3 – C.366–377.

47. Xie, J. Electrospun Micro- and Nanofibers for Sustained Delivery of Paclitaxel to Treat C6 Glioma in Vitro / J. Xie, C.-H. Wang // Pharmaceutical Research – 2006. – T. 23 – № 8 – C.1817–1826.

48. Almajhdi, F.N. In-vitro anticancer and antimicrobial activities of PLGA/silver nanofiber composites prepared by electrospinning / F.N. Almajhdi, H. Fouad, K.A. Khalil, H.M. Awad, S.H.S. Mohamed, T. Elsarnagawy, A.M. Albarrag, F.F. Al-Jassir, H.S. Abdo // Journal of Materials Science: Materials in Medicine – 2014. – T. 25 – № 4 – C.1045–1053.

49. Mehrasa, M. Electrospun aligned PLGA and PLGA/gelatin nanofibers embedded with silica nanoparticles for tissue engineering / M. Mehrasa, M.A. Asadollahi, K. Ghaedi, H. Salehi, A. Arpanaei // *International Journal of Biological Macromolecules* – 2015. – T. 79 – C.687–695.
50. Wang, G. Electrospun PLGA–silk fibroin–collagen nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering / G. Wang, X. Hu, W. Lin, C. Dong, H. Wu // *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal* – 2011. – T. 47 – № 3 – C.234–240.
51. Makadia, H.K. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier / H.K. Makadia, S.J. Siegel // *Polymers* – 2011. – T. 3 – № 3 – C.1377–1397.
52. Shin, H.J. Electrospun PLGA nanofiber scaffolds for articular cartilage reconstruction: mechanical stability, degradation and cellular responses under mechanical stimulation in vitro / H.J. Shin, C.H. Lee, I.H. Cho, Y.-J. Kim, Y.-J. Lee, I.A. Kim, K.-D. Park, N. Yui, J.-W. Shin // *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* – 2006. – T. 17 – № 1–2 – C.103–119.
53. Ulery, B.D. Biomedical applications of biodegradable polymers / B.D. Ulery, L.S. Nair, C.T. Laurencin // *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* – 2011. – T. 49 – № 12 – C.832–864.
54. Göpferich, A. Mechanisms of polymer degradation and erosion / A. Göpferich // *Biomaterials* – 1996. – T. 17 – № 2 – C.103–114.
55. Hua, N. Body distribution of poly(d,l-lactide-co-glycolide) copolymer degradation products in rats / N. Hua, J. Sun // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2008. – T. 19 – № 10 – C.3243–3248.
56. Zhao, W. Fabrication of functional PLGA-based electrospun scaffolds and their applications in biomedical engineering / W. Zhao, J. Li, K. Jin, W. Liu, X. Qiu, C. Li // *Materials Science and Engineering: C* – 2016. – T. 59 – C.1181–1194.

57. Yuan, Z. Anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidative bioactive glass-based nanofibrous dressing enables scarless wound healing / Z. Yuan, L. Zhang, S. Jiang, M. Shafiq, Y. Cai, Y. Chen, J. Song, X. Yu, H. Ijima, Y. Xu, X. Mo // *Smart Materials in Medicine* – 2023. – T. 4 – C.407–426.
58. Lacmanova, V. Copper layers sputtered on PTFE: Effect of annealing on antibacterial performance / V. Lacmanova, H.Y. Nguyenova, P. Ulbrich, P. Slepicka, P. Sajdl, V. Svorcik, A. Reznickova // *Materials Today Communications* – 2020. – T. 24 – C.101207.
59. Spasova, M. Tuning the properties of PVDF or PVDF-HFP fibrous materials decorated with ZnO nanoparticles by applying electrospinning alone or in conjunction with electrospraying / M. Spasova, N. Manolova, N. Markova, I. Rashkov // *Fibers and Polymers* – 2017. – T. 18 – № 4 – C.649–657.
60. El-Shanshory, A.A. Metronidazole Topically Immobilized Electrospun Nanofibrous Scaffold: Novel Secondary Intention Wound Healing Accelerator / A.A. El-Shanshory, M.M. Agwa, A.I. Abd-Elhamid, H.M.A. Soliman, X. Mo, E.-R. Kenawy // *Polymers* – 2022. – T. 14 – № 3 – C.454.
61. Kurtiş, B. Effect of Polylactide/Glycolide (PLGA) Membranes Loaded With Metronidazole on Periodontal Regeneration Following Guided Tissue Regeneration in Dogs / B. Kurtiş, B. Ünsal, D. Çetiner, E. Gültekin, G. Özcan, N. Çelebi, Ö. Ocak // *Journal of Periodontology* – 2002. – T. 73 – № 7 – C.694–700.
62. del Valle, L.J. Electrospun nanofibers of a degradable poly(ester amide). Scaffolds loaded with antimicrobial agents / L.J. del Valle, M. Roa, A. Díaz, M.T. Casas, J. Puiggali, A. Rodríguez-Galán // *Journal of Polymer Research* – 2012. – T. 19 – № 2 – C.9792.
63. Chen, Y.-T. Attachment of Periodontal Ligament Cells to Chlorhexidine-Loaded Guided Tissue Regeneration Membranes / Y.-T. Chen, S.-L. Hung, L.-W. Lin, L.-Y. Chi, L.-J. Ling // *Journal of Periodontology* – 2003. – T. 74 – № 11 – C.1652–1659.

64. Farzamfar, S. Tetracycline hydrochloride-containing poly (ϵ -caprolactone)/poly lactic acid scaffold for bone tissue engineering application: in vitro and in vivo study / S. Farzamfar, M. Naseri-Nosar, H. Sahrapeyma, A. Ehterami, A. Goodarzi, M. Rahmati, G. Ahmadi Lakalayeh, S. Ghorbani, A. Vaez, M. Salehi // International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials – 2019. – T. 68 – № 8 – C.472–479.

65. Lee, S.-B. Surface modification of a guided tissue regeneration membrane using tetracycline-containing biodegradable polymers / S.-B. Lee, D.-Y. Lee, Y.-K. Lee, K.-N. Kim, S.-H. Choi, K.-M. Kim // Surface and Interface Analysis – 2008. – T. 40 – № 3–4 – C.192–197.

66. Alven, S. Electrospun Nanofibers/Nanofibrous Scaffolds Loaded with Silver Nanoparticles as Effective Antibacterial Wound Dressing Materials / S. Alven, B. Buyana, Z. Feketshane, B.A. Aderibigbe // Pharmaceutics – 2021. – T. 13 – № 7 – C.964.

67. Lee, D. Preparation of antibacterial chitosan membranes containing silver nanoparticles for dental barrier membrane applications / D. Lee, S.J. Lee, J.-H. Moon, J.H. Kim, D.N. Heo, J.B. Bang, H.-N. Lim, I.K. Kwon // Journal of Industrial and Engineering Chemistry – 2018. – T. 66 – C.196–202.

68. Canales, D.A. Fabrication and assessment of bifunctional electrospun poly(l-lactic acid) scaffolds with bioglass and zinc oxide nanoparticles for bone tissue engineering / D.A. Canales, N. Piñones, M. Saavedra, C. Loyo, H. Palza, L. Peponi, A. Leonés, R.V. Baier, A.R. Boccaccini, A. Grünelwald, P.A. Zapata // International Journal of Biological Macromolecules – 2023. – T. 228 – C.78–88.

69. Khan, A. ur R. Exploration of the antibacterial and wound healing potential of a PLGA/silk fibroin based electrospun membrane loaded with zinc oxide nanoparticles / A. ur R. Khan, K. Huang, Z. Jinzhong, T. Zhu, Y. Morsi, A. Aldalbahi, M. El-Newehy, X. Yan, X. Mo // Journal of Materials Chemistry B – 2021. – T. 9 – № 5 – C.1452–1465.

70. Al-Saedi, S.I. Antibacterial potency, cell viability and morphological

implications of copper oxide nanoparticles encapsulated into cellulose acetate nanofibrous scaffolds / S.I. Al-Saeedi, N.S. Al-Kadhi, G.M. Al-Senani, O.A. Almaghrabi, A. Nafady // *International Journal of Biological Macromolecules* – 2021. – T. 182 – C.464–471.

71. Hashmi, M. Copper oxide (CuO) loaded polyacrylonitrile (PAN) nanofiber membranes for antimicrobial breath mask applications / M. Hashmi, S. Ullah, I.S. Kim // *Current Research in Biotechnology* – 2019. – T. 1 – C.1–10.

72. Li, Y. Drug-free and non-crosslinked chitosan scaffolds with efficient antibacterial activity against both Gram-negative and Gram-positive bacteria / Y. Li, Y.-Q. Chi, C.-H. Yu, Y. Xie, M.-Y. Xia, C.-L. Zhang, X. Han, Q. Peng // *Carbohydrate Polymers* – 2020. – T. 241 – C.116386.

73. Li, Y. Investigation into the physical properties, antioxidant and antibacterial activity of *Bletilla striata* polysaccharide/chitosan membranes / Y. Li, Z. Ma, X. Yang, Y. Gao, Y. Ren, Q. Li, Y. Qu, G. Chen, R. Zeng // *International Journal of Biological Macromolecules* – 2021. – T. 182 – C.311–320.

74. Alven, S. Polymer-Based Scaffolds Loaded with Aloe vera Extract for the Treatment of Wounds / S. Alven, V. Khwaza, O.O. Oyedeji, B.A. Aderibigbe // *Pharmaceutics* – 2021. – T. 13 – № 7 – C.961.

75. Suryamathi, M. Tridax Procumbens Extract Loaded Electrospun PCL Nanofibers: A Novel Wound Dressing Material / M. Suryamathi, C. Ruba, P. Viswanathamurthi, V. Balasubramanian, P. Perumal // *Macromolecular Research* – 2019. – T. 27 – № 1 – C.55–60.

76. Aminov, R.I. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature / R.I. Aminov // *Environmental Microbiology* – 2009. – T. 11 – № 12 – C.2970–2988.

77. Löfmark, S. Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections / S. Löfmark, C. Edlund, C.E. Nord // *Clinical Infectious Diseases*

– 2010. – T. 50 – № 1 – C.S16–S23.

78. Bonez, P.C. Chlorhexidine activity against bacterial biofilms / P.C. Bonez, C.F. dos Santos Alves, T.V. Dalmolin, V.A. Agertt, C.R. Mizdal, V. da C. Flores, J.B. Marques, R.C.V. Santos, M.M. Anraku de Campos // *American Journal of Infection Control* – 2013. – T. 41 – № 12 – C.e119–e122.

79. Salman, A. Detection of antibiotic resistant *Escherichia Coli* bacteria using infrared microscopy and advanced multivariate analysis / A. Salman, U. Sharaha, E. Rodriguez-Diaz, E. Shufan, K. Riesenber, I.J. Bigio, M. Huleihel // *The Analyst* – 2017. – T. 142 – № 12 – C.2136–2144.

80. Levy, S.B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance / S.B. Levy // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* – 2002. – T. 49 – № 1 – C.25–30.

81. Rai, M. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials / M. Rai, A. Yadav, A. Gade // *Biotechnology Advances* 2009. – T. 27 – № 1 – C.76–83.

82. Wang, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future / L. Wang, C. Hu, L. Shao // *International Journal of Nanomedicine* – 2017. – T. Volume 12 – C.1227–1249.

83. Sengupta, J. Physiologically Important Metal Nanoparticles and Their Toxicity / J. Sengupta, S. Ghosh, P. Datta, A. Gomes, A. Gomes // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* – 2014. – T. 14 – № 1 – C.990–1006.

84. Javed, R. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects / R. Javed, M. Zia, S. Naz, S.O. Aisida, N. ul Ain, Q. Ao // *Journal of Nanobiotechnology* – 2020. – T. 18 – № 1 – C.172.

85. Li, J. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives / J. Li, S. Zhuang // *European Polymer Journal* – 2020. – T. 138 – C.109984.

86. Chanda, A. Electrospun chitosan/polycaprolactone-hyaluronic acid bilayered scaffold for potential wound healing applications / A. Chanda, J. Adhikari, A. Ghosh, S.R. Chowdhury, S. Thomas, P. Datta, P. Saha // *International Journal of Biological Macromolecules* – 2018. – T. 116 – C.774–785.
87. Qi, L. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles / L. Qi, Z. Xu, X. Jiang, C. Hu, X. Zou // *Carbohydrate Research* – 2004. – T. 339 – № 16 – C.2693–2700.
88. Said, O.B. Evaluation of the Changes of Salivary pH among Dental Students Depending on Their Anxiety Level / O.B. Said, S. Razumova, E. Velichko, S. Tikhonova, H. Barakat // *European Journal of Dentistry* – 2020. – T. 14 – № 04 – C.605–612.
89. Lenis, J.A. Structure, morphology, adhesion and in vitro biological evaluation of antibacterial multi-layer HA-Ag/SiO₂/TiN/Ti coatings obtained by RF magnetron sputtering for biomedical applications / J.A. Lenis, P. Rico, J.L.G. Ribelles, M.A. Pacha-Olivenza, M.L. González-Martín, F.J. Bolívar // *Materials Science and Engineering: C* – 2020. – T. 116 – C.111268.
90. He, X. Biocompatibility, corrosion resistance and antibacterial activity of TiO₂/CuO coating on titanium / X. He, G. Zhang, X. Wang, R. Hang, X. Huang, L. Qin, B. Tang, X. Zhang // *Ceramics International* – 2017. – T. 43 – № 18 – C.16185–16195.
91. Heidenau, F. A novel antibacterial titania coating: Metal ion toxicity and in vitro surface colonization / F. Heidenau, W. Mittelmeier, R. Detsch, M. Haenle, F. Stenzel, G. Ziegler, H. Gollwitzer // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2005. – T. 16 – № 10 – C.883–888.
92. Tverdokhlebov, S.I. Research of the surface properties of the thermoplastic copolymer of vinylidene fluoride and tetrafluoroethylene modified with radio-frequency magnetron sputtering for medical application / S.I. Tverdokhlebov, E.N. Bolbasov, E.V. Shesterikov, A.I. Malchikhina, V.A. Novikov, Y.G. Anissimov // *Applied Surface Science* – 2012. – T. 263 – C.187–194.

93. Liu, P. Surface modification of porous PLGA scaffolds with plasma for preventing dimensional shrinkage and promoting scaffold–cell/tissue interactions / P. Liu, L. Sun, P. Liu, W. Yu, Q. Zhang, W. Zhang, J. Ma, P. Liu, J. Shen // *Journal of Materials Chemistry B* – 2018. – T. 6 – № 46 – C.7605–7613.

94. Sheikh, F.A. Hybrid scaffolds based on PLGA and silk for bone tissue engineering / F.A. Sheikh, H.W. Ju, B.M. Moon, O.J. Lee, J.-H. Kim, H.J. Park, D.W. Kim, D.-K. Kim, J.E. Jang, G. Khang, C.H. Park // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* – 2016. – T. 10 – № 3 – C.209–221.

95. Kim, C.H. An improved hydrophilicity via electrospinning for enhanced cell attachment and proliferation / C.H. Kim, M.S. Khil, H.Y. Kim, H.U. Lee, K.Y. Jahng // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* – 2006. – T. 78B – № 2 – C.283–290.

96. Sousa, I. Collagen surface modified poly(ϵ -caprolactone) scaffolds with improved hydrophilicity and cell adhesion properties / I. Sousa, A. Mendes, R.F. Pereira, P.J. Bártolo // *Materials Letters* – 2014. – T. 134 – C.263–267.

97. Kudryavtseva, V. The deposition of thin titanium-nitrogen coatings on the surface of PCL-based scaffolds for vascular tissue engineering / V. Kudryavtseva, K. Stankevich, E. Kibler, A. Golovkin, A. Mishanin, E. Bolbasov, E. Choyzonov, S. Tverdokhlebov // *Applied Physics Letters* – 2018. – T. 112 – № 15 – C.153705.

98. Sant, S. Hybrid PGS-PCL microfibrinous scaffolds with improved mechanical and biological properties / S. Sant, C.M. Hwang, S.-H. Lee, A. Khademhosseini // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* – 2011. – T. 5 – № 4 – C.283–291.

99. Vaikkath, D. A simple and effective method for making multipotent/multilineage scaffolds with hydrophilic nature without any postmodification/treatment / D. Vaikkath, R. Anitha, B. Sumathy, P.D. Nair // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2016. – T. 141 – C.112–119.

100. Oh, S. Fabrication and characterization of hydrophilic poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method / S. Oh // *Biomaterials* – 2003. – T. 24 – № 22 – C.4011–4021.
101. Jeon, H. A Surface-Modified Poly(ϵ -caprolactone) Scaffold Comprising Variable Nanosized Surface-Roughness Using a Plasma Treatment / H. Jeon, H. Lee, G. Kim // *Tissue Engineering Part C: Methods* – 2014. – T. 20 – № 12 – C.951–963.
102. Prabhakaran, M.P. Surface modified electrospun nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering / M.P. Prabhakaran, J. Venugopal, C.K. Chan, S. Ramakrishna // *Nanotechnology* – 2008. – T. 19 – № 45 – C.455102.
103. Wang, M. Design of Biomimetic and Bioactive Cold Plasma-Modified Nanostructured Scaffolds for Enhanced Osteogenic Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells / M. Wang, X. Cheng, W. Zhu, B. Holmes, M. Keidar, L.G. Zhang // *Tissue Engineering Part A* – 2014. – T. 20 – № 5–6 – C.1060–1071.
104. Jeon, H. A Surface-Modified Poly(ϵ -caprolactone) Scaffold Comprising Variable Nanosized Surface-Roughness Using a Plasma Treatment / H. Jeon, H. Lee, G. Kim // *Tissue Engineering Part C: Methods* – 2014. – T. 20 – № 12 – C.951–963.
105. Chandrasekaran, A.R. Fabrication of a nanofibrous scaffold with improved bioactivity for culture of human dermal fibroblasts for skin regeneration / A.R. Chandrasekaran, J. Venugopal, S. Sundarrajan, S. Ramakrishna // *Biomedical Materials* – 2011. – T. 6 – № 1 – C.015001.
106. Sarraf, M. A state-of-the-art review of the fabrication and characteristics of titanium and its alloys for biomedical applications / M. Sarraf, E. Rezvani Ghomi, S. Alipour, S. Ramakrishna, N. Liana Sukiman // *Bio-Design and Manufacturing* – 2022. – T. 5 – № 2 – C.371–395.
107. Zhang, Y. Mechanical and biological properties of Ti-(0–25 wt%)Nb alloys for biomedical implants application / Y. Zhang, D. Sun, J. Cheng, J.K.H. Tsoi, J. Chen //

Regenerative Biomaterials – 2020. – T. 7 – № 1 – C.119–127.

108. W. Nicholson, J. Titanium Alloys for Dental Implants: A Review / J. W. Nicholson // *Prosthesis* – 2020. – T. 2 – № 2 – C.100–116.

109. Li, Y. Enhanced antibacterial properties of orthopedic implants by titanium nanotube surface modification: a review of current techniques / Y. Li, Y. Yang, R. Li, X. Tang, D. Guo, Y. Qing, Y. Qin // *International Journal of Nanomedicine* – 2019. – T. Volume 14 – C.7217–7236.

110. Bolbasov, E.N. Surface modification of electrospun poly-(l-lactic) acid scaffolds by reactive magnetron sputtering / E.N. Bolbasov, P.V. Maryin, K.S. Stankevich, A.I. Kozelskaya, E.V. Shesterikov, Y.I. Khodyrevskaya, M.V. Nasonova, D.K. Shishkova, Y.A. Kudryavtseva, Y.G. Anissimov, S.I. Tverdokhlebov // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2018. – T. 162 – C.43–51.

111. Stranak, V. Deposition of thin titanium–copper films with antimicrobial effect by advanced magnetron sputtering methods / V. Stranak, H. Wulff, H. Rebl, C. Zietz, K. Arndt, R. Bogdanowicz, B. Nebe, R. Bader, A. Podbielski, Z. Hubicka, R. Hippler // *Materials Science and Engineering: C* – 2011. – T. 31 – № 7 – C.1512–1519.

112. Mahmoudi-Qashqay, S. Improving antibacterial ability of Ti-Cu thin films with co-sputtering method / S. Mahmoudi-Qashqay, M.-R. Zamani-Meymian, S.J. Sadati // *Scientific Reports* – 2023. – T. 13 – № 1 – C.16593.

113. Tahmasebizad, N. Photocatalytic activity and antibacterial behavior of TiO₂ coatings co-doped with copper and nitrogen via sol–gel method / N. Tahmasebizad, M.T. Hamedani, M. Shaban Ghazani, Y. Pazhuhfar // *Journal of Sol-Gel Science and Technology* – 2020. – T. 93 – № 3 – C.570–578.

114. Sobczyk-Guzenda, A. Mechanical, photocatalytic and microbiological properties of titanium dioxide thin films synthesized with the sol–gel and low temperature plasma deposition techniques / A. Sobczyk-Guzenda, B. Pietrzyk, W. Jakubowski, H.

Szymanowski, W. Szymański, J. Kowalski, K. Oleśko, M. Gazicki-Lipman // *Materials Research Bulletin* – 2013. – T. 48 – № 10 – C.4022–4031.

115. Hu, J. Effect of ultrasonic micro-arc oxidation on the antibacterial properties and cell biocompatibility of Ti-Cu alloy for biomedical application / J. Hu, H. Li, X. Wang, L. Yang, M. Chen, R. Wang, G. Qin, D.-F. Chen, E. Zhang // *Materials Science and Engineering: C* – 2020. – T. 115 – C.110921.

116. Wang, Y. Review of the biocompatibility of micro-arc oxidation coated titanium alloys / Y. Wang, H. Yu, C. Chen, Z. Zhao // *Materials & Design* – 2015. – T. 85 – C.640–652.

117. Ozkan, E. Copper-based water repellent and antibacterial coatings by aerosol assisted chemical vapour deposition / E. Ozkan, C.C. Crick, A. Taylor, E. Allan, I.P. Parkin // *Chemical Science* – 2016. – T. 7 – № 8 – C.5126–5131.

118. López-Huerta, F. Biocompatibility and Surface Properties of TiO₂ Thin Films Deposited by DC Magnetron Sputtering / F. López-Huerta, B. Cervantes, O. González, J. Hernández-Torres, L. García-González, R. Vega, A. Herrera-May, E. Soto // *Materials* – 2014. – T. 7 – № 6 – C.4105–4117.

119. Khan, M.I. Characterizations of multilayer ZnO thin films deposited by sol-gel spin coating technique / M.I. Khan, K.A. Bhatti, R. Qindeel, N. Alonizan, H.S. Althobaiti // *Results in Physics* – 2017. – T. 7 – C.651–655.

120. Rosaz, G. Niobium thin film thickness profile tailoring on complex shape substrates using unbalanced biased High Power Impulse Magnetron Sputtering / G. Rosaz, A. Bartkowska, C.P.A. Carlos, T. Richard, M. Taborelli // *Surface and Coatings Technology* – 2022. – T. 436 – C.128306.

121. Kelly, P.. Magnetron sputtering: a review of recent developments and applications / P.. Kelly, R.. Arnell // *Vacuum* – 2000. – T. 56 – № 3 – C.159–172.

122. Badaraev, A.D. Surface Modification of Electrospun Bioresorbable and

Biostable Scaffolds by Pulsed DC Magnetron Sputtering of Titanium for Gingival Tissue Regeneration / A.D. Badaraev, D. V. Sidelev, A.I. Kozelskaya, E.N. Bolbasov, T.-H. Tran, A. V. Nashchekin, A.B. Malashicheva, S. Rutkowski, S.I. Tverdokhlebov // *Polymers* – 2022. – T. 14 – № 22 – C.4922.

123. El-Hossary, F.M. Effect of DC-pulsed magnetron sputtering power on structural, tribological and biocompatibility of Ti–Zr–N thin film / F.M. El-Hossary, A.M.A. El-Rahman, M. Raaif, S. Qu, J. Zhao, M.F. Maitz, M.A. EL-Kassem // *Applied Physics A* – 2018. – T. 124 – № 1 – C.42.

124. Chiu, T.-W. Antibacterial property of CuCrO₂ thin films prepared by RF magnetron sputtering deposition / T.-W. Chiu, Y.-C. Yang, A.-C. Yeh, Y.-P. Wang, Y.-W. Feng // *Vacuum* – 2013. – T. 87 – C.174–177.

125. Kuppusami, P. Microstructural, nanomechanical and antibacterial properties of magnetron sputtered nanocomposite thin films of CrN/Cu / P. Kuppusami, T. Elangovan, S. Murugesan, R. Thirumurugesan, S. Khan, R.P. George, R. Ramaseshan, R. Divakar, E. Mohandas, D. Mangalaraj // *Surface Engineering* – 2012. – T. 28 – № 2 – C.134–140.

126. Tan, X.-Q. Recent Progress in Magnetron Sputtering Technology Used on Fabrics / X.-Q. Tan, J.-Y. Liu, J.-R. Niu, J.-Y. Liu, J.-Y. Tian // *Materials* – 2018. – T. 11 – № 10 – C.1953.

127. Osorio-Vargas, P. Antimicrobial Cu-functionalized surfaces prepared by bipolar asymmetric DC-pulsed magnetron sputtering (DCP) / P. Osorio-Vargas, R. Sanjines, C. Ruales, C. Castro, C. Pulgarin, A.-J. Rengifo-Herrera, J.-C. Lavanchy, J. Kiwi // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* – 2011. – T. 220 – № 1 – C.70–76.

128. Dong, H. Cu/Zn galvanic couples composite antibacterial dressings prepared by template-assisted magnetron sputtering / H. Dong, S. Zhang, L. Yang, N. Wang, S. Chen, J. Ma, J. Li // *Composites Part B: Engineering* – 2021. – T. 224 – C.109240.

129. Sidelev, D.V. A comparative study on the properties of chromium coatings deposited by magnetron sputtering with hot and cooled target / D.V. Sidelev, G.A. Bleykher, M. Bestetti, V.P. Krivobokov, A. Vincenzo, S. Franz, M.F. Brunella // *Vacuum* – 2017. – T. 143 – C.479–485.

130. Harmankaya, N. Raloxifene and alendronate containing thin mesoporous titanium oxide films improve implant fixation to bone / N. Harmankaya, J. Karlsson, A. Palmquist, M. Halvarsson, K. Igawa, M. Andersson, P. Tengvall // *Acta Biomaterialia* – 2013. – T. 9 – № 6 – C.7064–7073.

131. Song, D.-H. Synthesis of titanium oxide thin films containing antibacterial silver nanoparticles by a reactive magnetron co-sputtering system for application in biomedical implants / D.-H. Song, S.-H. Uhm, S.-E. Kim, J.-S. Kwon, J.-G. Han, K.-N. Kim // *Materials Research Bulletin* – 2012. – T. 47 – № 10 – C.2994–2998.

132. Ren, Q. Reactive magnetron co-sputtering of Ti-xCuO coatings: Multifunctional interfaces for blood-contacting devices / Q. Ren, L. Qin, F. Jing, D. Cheng, Y. Wang, M. Yang, D. Xie, Y. Leng, B. Akhavan, N. Huang // *Materials Science and Engineering: C* – 2020. – T. 116 – C.111198.

133. Sreedhar, M. Cu/TiO₂ thin films prepared by reactive RF magnetron sputtering / M. Sreedhar, I.N. Reddy, P. Bera, D. Ramachandran, K. Gobi Saravanan, A.M. Rabel, C. Anandan, P. Kuppusami, J. Brijitta // *Applied Physics A* – 2015. – T. 120 – № 2 – C.765–773.

134. Badaraev, A.D. Modes development of PLGA scaffolds modification by magnetron co-sputtering of Cu and Ti targets / A.D. Badaraev, D. V Sidelev, Y.N. Yurjev, V.R. Bukal, S.I. Tverdokhlebov // *Journal of Physics: Conference Series* – 2021. – T. 1799 – № 1 – C.012001.

135. Handbook of Charged Particle Optics / // Handbook of Charged Particle Optics 2017.

136. Goldstein, J.I. Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis / J.I. Goldstein, D.E. Newbury, J.R. Michael, N.W.M. Ritchie, J.H.J. Scott, D.C. Joy // Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis 2017.

137. Jalili, N. A review of atomic force microscopy imaging systems: application to molecular metrology and biological sciences / N. Jalili, K. Laxminarayana // Mechatronics – 2004. – T. 14 – № 8 – C.907–945.

138. Allison, D.P. Atomic force microscopy of biological samples / D.P. Allison, N.P. Mortensen, C.J. Sullivan, M.J. Doktycz // WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology – 2010. – T. 2 – № 6 – C.618–634.

139. Loh, Q.L. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size / Q.L. Loh, C. Choong // Tissue Engineering Part B: Reviews – 2013. – T. 19 – № 6 – C.485–502.

140. Kemme, M. Quantitative Assessment of Antimicrobial Activity of PLGA Films Loaded with 4-Hexylresorcinol / M. Kemme, R. Heinzl-Wieland // Journal of Functional Biomaterials – 2018. – T. 9 – № 1 – C.4.

141. Khan, H. Experimental methods in chemical engineering: X-ray diffraction spectroscopy — XRD / H. Khan, A.S. Yerramilli, A. D'Oliveira, T.L. Alford, D.C. Boffito, G.S. Patience // The Canadian Journal of Chemical Engineering – 2020. – T. 98 – № 6 – C.1255–1266.

142. Davis, J.R. Tensile testing (2nd ed.) / J.R. Davis // Tensile testing – 2004.

143. Zhang, W. Modeling the Primary Size Effects of Citrate-Coated Silver Nanoparticles on Their Ion Release Kinetics / W. Zhang, Y. Yao, N. Sullivan, Y. Chen // Environmental Science & Technology – 2011. – T. 45 – № 10 – C.4422–4428.

144. British Standard Textiles — Determination of antibacterial activity of textile products / British Standard // Iso 20743:2013) – 2013.

145. Villapún, V.M. Tuning the Mechanical and Antimicrobial Performance of a Cu-Based Metallic Glass Composite through Cooling Rate Control and Annealing / V.M. Villapún, F. Esat, S. Bull, L.G. Dover, S. González // *Materials* – 2017. – T. 10 – № 5 – C.506.
146. Xin, C. Biological corrosion behaviour and antibacterial properties of Ti-Cu alloy with different Ti₂Cu morphologies for dental applications / C. Xin, N. Wang, Y. Chen, B. He, Q. Zhao, L. Chen, Y. Tang, B. Luo, Y. Zhao, X. Yang // *Materials & Design* – 2022. – T. 215 – C.110540.
147. Albus, U. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edn) / U. Albus // *Laboratory Animals* – 2012. – T. 46 – № 3 – C.267–268.
148. Lee, D.-W. The antibacterial activity of chlorhexidine digluconate against *Streptococcus mutans* biofilms follows sigmoidal patterns / D.-W. Lee, J.-E. Jung, Y.-M. Yang, J.-G. Kim, H.-K. Yi, J.-G. Jeon // *European Journal of Oral Sciences* – 2016. – T. 124 – № 5 – C.440–446.
149. Chatterjee, T. Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model / T. Chatterjee, B.K. Chatterjee, D. Majumdar, P. Chakrabarti // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* – 2015. – T. 1850 – № 2 – C.299–306.
150. Murray, A.F. Antimicrobial properties of a multi-component alloy / A.F. Murray, D. Bryan, D.A. Garfinkel, C.S. Jorgensen, N. Tang, W. Liyanage, E.A. Lass, Y. Yang, P.D. Rack, T.G. Denes, D.A. Gilbert // *Scientific Reports* – 2022. – T. 12 – № 1 – C.21427.
151. Yu, X. The growth mechanism of copper films coated on cenosphere particles using magnetron sputtering method / X. Yu, Z. Shen // *Journal of Physics D: Applied Physics* – 2008. – T. 41 – № 22 – C.225409.
152. Du, M. The interface formation of copper and low dielectric constant fluoro-

polymer: Plasma surface modification and its effect on copper diffusion / M. Du, R.L. Opila, V.M. Donnelly, J. Sapjeta, T. Boone // *Journal of Applied Physics* – 1999. – T. 85 – № 3 – C.1496–1502.

153. Itoh, T. Growth process of CuO(111) and Cu₂O(001) thin films on MgO(001) substrate under metal-mode condition by reactive dc-magnetron sputtering / T. Itoh, K. Maki // *Vacuum* – 2007. – T. 81 – № 9 – C.1068–1076.

154. Ratsch, C. Nucleation theory and the early stages of thin film growth / C. Ratsch, J.A. Venables // *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* – 2003. – T. 21 – № 5 – C.S96–S109.

155. Seel, S.C. Tensile stress evolution during deposition of Volmer–Weber thin films / S.C. Seel, C. V. Thompson, S.J. Hearne, J.A. Floro // *Journal of Applied Physics* – 2000. – T. 88 – № 12 – C.7079–7088.

156. Kolská, Z. PTFE surface modification by Ar plasma and its characterization / Z. Kolská, A. Řezníčková, V. Hnatowicz, V. Švorčík // *Vacuum* – 2012. – T. 86 – № 6 – C.643–647.

157. TANG, C. Probing the nano- and micro-scales of reverse osmosis membranes—A comprehensive characterization of physiochemical properties of uncoated and coated membranes by XPS, TEM, ATR-FTIR, and streaming potential measurements / C. TANG, Y. KWON, J. LECKIE // *Journal of Membrane Science* – 2007. – T. 287 – № 1 – C.146–156.

158. Vandencastele, N. Selected Effect of the Ions and the Neutrals in the Plasma Treatment of PTFE Surfaces: An OES-AFM-Contact Angle and XPS Study / N. Vandencastele, H. Fairbrother, F. Reniers // *Plasma Processes and Polymers* – 2005. – T. 2 – № 6 – C.493–500.

159. Vandencastele, N. XPS and contact angle study of N₂ and O₂ plasma-modified PTFE, PVDF and PVF surfaces / N. Vandencastele, D. Merche, F. Reniers //

Surface and Interface Analysis – 2006. – T. 38 – № 4 – C.526–530.

160. Matikainen, A. Atmospheric oxidation and carbon contamination of silver and its effect on surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) / A. Matikainen, T. Nuutinen, T. Itkonen, S. Heinilehto, J. Puustinen, J. Hiltunen, J. Lappalainen, P. Karioja, P. Vahimaa // *Scientific Reports* – 2016. – T. 6 – № 1 – C.37192.

161. Piao, H. Adventitious carbon growth on aluminium and gold-aluminium alloy surfaces / H. Piao, N.S. McIntyre // *Surface and Interface Analysis* – 2002. – T. 33 – № 7 – C.591–594.

162. Biesinger, M.C. Advanced analysis of copper X-ray photoelectron spectra / M.C. Biesinger // *Surface and Interface Analysis* – 2017. – T. 49 – № 13 – C.1325–1334.

163. Salvi, A. XPS characterization of (copper-based) coloured stains formed on limestone surfaces of outdoor Roman monuments / A. Salvi, F. Langerame, A. Macchia, M. Sammartino, M. Tabasso // *Chemistry Central Journal* – 2012. – T. 6 – № Suppl 2 – C.S10.

164. Platzman, I. Oxidation of Polycrystalline Copper Thin Films at Ambient Conditions / I. Platzman, R. Brener, H. Haick, R. Tannenbaum // *The Journal of Physical Chemistry C* – 2008. – T. 112 – № 4 – C.1101–1108.

165. Cudennec, Y. The transformation of $\text{Cu}(\text{OH})_2$ into CuO , revisited / Y. Cudennec, A. Lecerf // *Solid State Sciences* – 2003. – T. 5 – № 11–12 – C.1471–1474.

166. Wu, S. Interaction of copper atoms with surface graft-copolymerized poly(tetrafluoroethylene) film: an in situ X-ray photoelectron spectroscopic study / S. Wu, E.. Kang, K.. Neoh // *Applied Surface Science* – 2001. – T. 174 – № 3–4 – C.296–305.

167. Brzhezinskaya, M.M. Study of poly(vinylidene fluoride) radiative modification using core level spectroscopy / M.M. Brzhezinskaya, V.M. Morilova, E.M. Baitinger, S.E. Evsyukov, L.A. Pesin // *Polymer Degradation and Stability* – 2014. – T.

99 – C.176–179.

168. Han, S. Surface reaction on polyvinylidene fluoride (PVDF) irradiated by low energy ion beam in reactive gas environment / S. Han, W.-K. Choi, K.H. Yoon, S.-K. Koh // *Journal of Applied Polymer Science* – 1999. – T. 72 – № 1 – C.41–47.

169. Vandecasteele, N. Plasma-modified polymer surfaces: Characterization using XPS / N. Vandecasteele, F. Reniers // *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* – 2010. – T. 178–179 – C.394–408.

170. Nansé, G. Fluorination of carbon blacks: An X-ray photoelectron spectroscopy study: I. A literature review of XPS studies of fluorinated carbons. XPS investigation of some reference compounds / G. Nansé, E. Papirer, P. Fioux, F. Moguet, A. Tressaud // *Carbon* 1997. – T. 35 – № 2 – C.175–194.

171. Zhu, Y. A novel zwitterionic polyelectrolyte grafted PVDF membrane for thoroughly separating oil from water with ultrahigh efficiency / Y. Zhu, F. Zhang, D. Wang, X.F. Pei, W. Zhang, J. Jin // *Journal of Materials Chemistry A* – 2013. – T. 1 – № 18 – C.5758.

172. Wells, R.K. Modeling of non-isothermal glow discharge modification of PTFE using low-energy ion beams / R.K. Wells, M.E. Ryan, J.P.S. Badyal // *The Journal of Physical Chemistry* – 1993. – T. 97 – № 49 – C.12879–12881.

173. Torrisi, L. Ion beam processing of polyvinylidene fluoride / L. Torrisi, R. Percolla // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* – 1996. – T. 117 – № 4 – C.387–391.

174. Lee, J.S. Surface Functionalization of a Poly(vinylidene fluoride): Effect on the Adhesive and Piezoelectric Properties / J.S. Lee, G.H. Kim, S.M. Hong, H.J. Choi, Y. Seo // *ACS Applied Materials & Interfaces* – 2009. – T. 1 – № 12 – C.2902–2908.

175. Vecchio, M.A. Plasma surface modification of P(VDF-TrFE): Influence of surface chemistry and structure on electronic charge injection / M.A. Vecchio, A.B.

Meddeb, M.T. Lanagan, Z. Ounaies, J.R. Shallenberger // *Journal of Applied Physics* – 2018. – T. 124 – № 11 – C.114102.

176. Takahagi, T. Effects of surface cleaning and X-ray irradiation in XPS study of polymers / T. Takahagi, Y. Nakayama, F. Soeda, A. Ishitani // *Journal of Applied Polymer Science* – 1990. – T. 41 – № 78 – C.1451–1458.

177. Landoulsi, J. Organic adlayer on inorganic materials: XPS analysis selectivity to cope with adventitious contamination / J. Landoulsi, M.J. Genet, S. Fleith, Y. Touré, I. Liascukiene, C. Méthivier, P.G. Rouxhet // *Applied Surface Science* – 2016. – T. 383 – C.71–83.

178. Duca, M.D. Surface modifications of polyvinylidene fluoride (PVDF) under rf Ar plasma / M.D. Duca, C.L. Plosceanu, T. Pop // *Polymer Degradation and Stability* – 1998. – T. 61 – № 1 – C.65–72.

179. Liu, C.Z. Comparative study on the effect of RF and DBD plasma treatment on PTFE surface modification / C.Z. Liu, J.Q. Wu, L.Q. Ren, J. Tong, J.Q. Li, N. Cui, N.M.D. Brown, B.J. Meenan // *Materials Chemistry and Physics* – 2004. – T. 85 – № 2–3 – C.340–346.

180. Xu, J.F. Preparation and Characterization of CuO Nanocrystals / J.F. Xu, W. Ji, Z.X. Shen, S.H. Tang, X.R. Ye, D.Z. Jia, X.Q. Xin // *Journal of Solid State Chemistry* – 1999. – T. 147 – № 2 – C.516–519.

181. Platzman, I. Oxidation of polycrystalline copper thin films at ambient conditions / I. Platzman, R. Brener // *The Journal of Physical ...* – 2008. – № 111 – C.1101–1108.

182. Al-Kuhaili, M.F. Characterization of copper oxide thin films deposited by the thermal evaporation of cuprous oxide (Cu₂O) / M.F. Al-Kuhaili // *Vacuum* – 2008. – T. 82 – № 6 – C.623–629.

183. Shao, L. A facile strategy to enhance PVDF ultrafiltration membrane

performance via self-polymerized polydopamine followed by hydrolysis of ammonium fluotitanate / L. Shao, Z.X. Wang, Y.L. Zhang, Z.X. Jiang, Y.Y. Liu // *Journal of Membrane Science* – 2014. – T. 461 – C.10–21.

184. Wucher, A. Angular distribution of particles sputtered from metals and alloys / A. Wucher // *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* – 1988. – T. 6 – № 4 – C.2316.

185. Kochervinskii, V. Influence of parameters of molecular mobility on formation of structure in ferroelectric vinylidene fluoride copolymers / V. Kochervinskii, I. Malyskina, A. Pavlov, N. Bessonova, A. Korlyukov, V. Volkov, N. Kozlova, N. Shmakova // *Journal of Applied Physics* – AIP Publishing, 2015. – T. 117 – № 21 – C.214101.

186. Chan, K.-Y. Thickness dependence of the structural and electrical properties of copper films deposited by dc magnetron sputtering technique / K.-Y. Chan, T.-Y. Tou, B.-S. Teo // *Microelectronics Journal* – 2006. – T. 37 – № 7 – C.608–612.

187. Dong, Z.-Q. Superhydrophobic PVDF–PTFE electrospun nanofibrous membranes for desalination by vacuum membrane distillation / Z.-Q. Dong, X. Ma, Z.-L. Xu, W.-T. You, F. Li // *Desalination* – 2014. – T. 347 – C.175–183.

188. Ogwu, A.A. An investigation of the surface energy and optical transmittance of copper oxide thin films prepared by reactive magnetron sputtering / A.A. Ogwu, E. Bouquerel, O. Ademosu, S. Moh, E. Crossan, F. Placido // *Acta Materialia* – 2005. – T. 53 – № 19 – C.5151–5159.

189. Castro, C. Structure-reactivity relations for DC-magnetron sputtered Cu-layers during *E. coli* inactivation in the dark and under light / C. Castro, R. Sanjines, C. Pulgarin, P. Osorio, S.A. Giraldo, J. Kiwi // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* – 2010. – T. 216 – № 2–3 – C.295–302.

190. Baji, A. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented

morphology, structures and tensile properties / A. Baji, Y.W. Mai, S.C. Wong, M. Abtahi, P. Chen // *Composites Science and Technology* 2010. – T. 70 – № 5 – C.703–718.

191. Yao, C. Surface modification and antibacterial activity of electrospun polyurethane fibrous membranes with quaternary ammonium moieties / C. Yao, X. Li, K.G. Neoh, Z. Shi, E.T. Kang // *Journal of Membrane Science* – 2008. – T. 320 – № 1–2 – C.259–267.

192. Huang, C. High-Strength Mats from Electrospun Poly(p-Phenylene Biphenyltetracarboximide) Nanofibers / C. Huang, S. Chen, D.H. Reneker, C. Lai, H. Hou // *Advanced Materials* – 2006. – T. 18 – № 5 – C.668–671.

193. Ren, G. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications / G. Ren, D. Hu, E.W.C. Cheng, M.A. Vargas-Reus, P. Reip, R.P. Allaker // *International Journal of Antimicrobial Agents* – 2009. – T. 33 – № 6 – C.587–590.

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

195. Wojcieszak, D. Influence of Cu–Ti thin film surface properties on antimicrobial activity and viability of living cells / D. Wojcieszak, D. Kaczmarek, A. Antosiak, M. Mazur, Z. Rybak, A. Rusak, M. Osekowska, A. Poniedzialek, A. Gamian, B. Szponar // *Materials Science and Engineering: C* – 2015. – T. 56 – C.48–56.

196. Finke, B. Antimicrobial Potential of Copper-Containing Titanium Surfaces Generated by Ion Implantation and Dual High Power Impulse Magnetron Sputtering / B. Finke, M. Polak, F. Hempel, H. Rebl, C. Zietz, V. Stranak, G. Lukowski, R. Hippler, R. Bader, J.B. Nebe, K.-D. Weltmann, K. Schröder // *Advanced Engineering Materials* – 2012. – T. 14 – № 5 – C.B224–B230.

197. Grass, G. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface / G. Grass, C. Rensing, M. Solioz // *Applied and Environmental Microbiology* – 2011. – T. 77 – № 5 –

C.1541–1547.

198. Rtimi, S. Advances in catalytic/photocatalytic bacterial inactivation by nano Ag and Cu coated surfaces and medical devices / S. Rtimi, D.D. Dionysiou, S.C. Pillai, J. Kiwi // *Applied Catalysis B: Environmental* – Elsevier, 2019. – T. 240 – № July 2018 – C.291–318.

199. Ding, Z. Immobilization of chitosan onto poly- γ -lactic acid film surface by plasma graft polymerization to control the morphology of fibroblast and liver cells / Z. Ding // *Biomaterials* – 2004. – T. 25 – № 6 – C.1059–1067.

200. M. Pelagade, S. Investigation of Surface Free Energy for PTFE Polymer by Bipolar Argon Plasma Treatment / S. M. Pelagade, N. L. Singh, R. S. Rane, S. Mukherjee, U. P. Deshpande, V. Ganesan, T. Shripathi // *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology* – 2012. – T. 02 – № 02 – C.132–136.

201. McCafferty, E. An X-ray photoelectron spectroscopy sputter profile study of the native air-formed oxide film on titanium / E. McCafferty, J.. Wightman // *Applied Surface Science* – 1999. – T. 143 – № 1–4 – C.92–100.

202. Yu, C.-C. Random and aligned electrospun PLGA nanofibers embedded in microfluidic chips for cancer cell isolation and integration with air foam technology for cell release / C.-C. Yu, Y.-W. Chen, P.-Y. Yeh, Y.-S. Hsiao, W.-T. Lin, C.-W. Kuo, D.-Y. Chueh, Y.-W. You, J.-J. Shyue, Y.-C. Chang, P. Chen // *Journal of Nanobiotechnology* – 2019. – T. 17 – № 1 – C.31.

203. Shastri, P. Glycosaminoglycan-functionalized poly-lactide-co-glycolide nanoparticles: synthesis, characterization, cytocompatibility, and cellular uptake / P. Shastri, S. Lamichhane, N. Arya, N. Ojha, E. Kohler // *International Journal of Nanomedicine* – 2015. – C.775.

204. Chen, X. A review on C1s XPS-spectra for some kinds of carbon materials / X. Chen, X. Wang, D. Fang // *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures* – 2020.

– T. 28 – № 12 – C.1048–1058.

205. Wan, Y. Characterization of surface property of poly(lactide-co-glycolide) after oxygen plasma treatment / Y. Wan, X. Qu, J. Lu, C. Zhu, L. Wan, J. Yang, J. Bei, S. Wang // *Biomaterials* – 2004. – T. 25 – № 19 – C.4777–4783.

206. Wasielewski, R. Surface characterization of TiO₂ thin films obtained by high-energy reactive magnetron sputtering / R. Wasielewski, J. Domaradzki, D. Wojcieszak, D. Kaczmarek, A. Borkowska, E.L. Prociow, A. Ciszewski // *Applied Surface Science* – 2008. – T. 254 – № 14 – C.4396–4400.

207. Güzelçimen, F. The effect of thickness on surface structure of rf sputtered TiO₂ thin films by XPS, SEM/EDS, AFM and SAM / F. Güzelçimen, B. Tanören, Ç. Çetinkaya, M.D. Kaya, H.İ. Efkere, Y. Özen, D. Bingöl, M. Sirkeci, B. Kınacı, M.B. Ünlü, S. Özçelik // *Vacuum* – 2020. – T. 182 – C.109766.

208. Abdullah, S.A. Influence of substrate annealing on inducing Ti³⁺ and oxygen vacancy in TiO₂ thin films deposited via RF magnetron sputtering / S.A. Abdullah, M.Z. Sahdan, N. Nafarizal, H. Saim, Z. Embong, C.H. Cik Rohaida, F. Adriyanto // *Applied Surface Science* – 2018. – T. 462 – C.575–582.

209. Qi, Q. Preparation of single-crystal TiC (111) by radio frequency magnetron sputtering at low temperature / Q. Qi, W.Z. Zhang, L.Q. Shi, W.Y. Zhang, W. Zhang, B. Zhang // *Thin Solid Films* – 2012. – T. 520 – № 23 – C.6882–6887.

210. Gonbeau, D. XPS study of thin films of titanium oxysulfides / D. Gonbeau, C. Guimon, G. Pfister-Guillouzo, A. Levasseur, G. Meunier, R. Dormoy // *Surface Science* – 1991. – T. 254 – № 1–3 – C.81–89.

211. Zhang, S. Excellent mechanical, tribological and anti-corrosive performance of novel Ti-DLC nanocomposite thin films prepared via magnetron sputtering method / S. Zhang, M. Yan, Y. Yang, Y. Zhang, F. Yan, H. Li // *Carbon* – 2019. – T. 151 – C.136–147.

212. Fricke, K. High Rate Etching of Polymers by Means of an Atmospheric Pressure Plasma Jet / K. Fricke, H. Steffen, T. von Woedtke, K. Schröder, K.-D. Weltmann // *Plasma Processes and Polymers* – 2011. – T. 8 – № 1 – C.51–58.

213. Lin, Z. The microstructure and wettability of the TiO_x films synthesized by reactive DC magnetron sputtering / Z. Lin, K. Liu, Y.-C. Zhang, X.-J. Yue, G.-Q. Song, D.-C. Ba // *Materials Science and Engineering: B* – 2009. – T. 156 – № 1–3 – C.79–83.

214. Lee, K.-S. Anatase-phase titanium oxide by low temperature oxidation of metallic Ti thin film / K.-S. Lee, I.-S. Park // *Scripta Materialia* – 2003. – T. 48 – № 6 – C.659–663.

215. Badaraev, A.D. Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa / A.D. Badaraev, A. Koniaeva, S.A. Krikova, E.V. Shesterikov, E.N. Bolbasov, A.L. Nemykina, V.M. Bouznik, K.S. Stankevich, Y.M. Zhukov, I.P. Mishin, E.Y. Varakuta, S.I. Tverdokhlebov // *Applied Surface Science* – 2020. – T. 504 – C.144068.

216. Jacobs, T. Plasma Surface Modification of Biomedical Polymers: Influence on Cell-Material Interaction / T. Jacobs, R. Morent, N. De Geyter, P. Dubruel, C. Leys // *Plasma Chemistry and Plasma Processing* – 2012. – T. 32 – № 5 – C.1039–1073.

217. Asadian, M. Fabrication and Plasma Modification of Nanofibrous Tissue Engineering Scaffolds / M. Asadian, K.V. Chan, M. Norouzi, S. Grande, P. Cools, R. Morent, N. De Geyter // *Nanomaterials* – 2020. – T. 10 – № 1 – C.119.

218. Mejía V, H.D. Microstructural and electrochemical properties of TiAlN(Ag,Cu) nanocomposite coatings for medical applications deposited by dc magnetron sputtering / H.D. Mejía V, A.M. Echavarría, J.A. Calderón, G. Bejarano G // *Journal of Alloys and Compounds* – 2020. – T. 828 – C.154396.

219. Purusottam Reddy, B. Growth, microstructure and supercapacitive performance of copper oxide thin films prepared by RF magnetron sputtering / B.

Purusottam Reddy, K. Sivajee Ganesh, O.M. Hussain // *Applied Physics A* – 2016. – T. 122 – № 2 – C.128.

220. Mazur, M. Investigations of elemental composition and structure evolution in (Ti,Cu)-oxide gradient thin films prepared using (multi)magnetron co-sputtering / M. Mazur, J. Domaradzki, D. Wojcieszak, D. Kaczmarek // *Surface and Coatings Technology* – 2018. – T. 334 – C.150–157.

221. Yang, F. Effect of amorphous carbon on the tensile behavior of polyacrylonitrile (PAN)-based carbon fibers / F. Yang, G. Hu, H. He, M. Yi, Y. Ge, L. Ran, K. Peng // *Journal of Materials Science* – 2019. – T. 54 – № 11 – C.8800–8813.

222. Gajendiran, M. Gold nanoparticle conjugated PLGA–PEG–SA–PEG–PLGA multiblock copolymer nanoparticles: synthesis, characterization, in vivo release of rifampicin / M. Gajendiran, S.M. Jainuddin Yousuf, V. Elangovan, S. Balasubramanian // *J. Mater. Chem. B* – 2014. – T. 2 – № 4 – C.418–427.

223. Spek, S. Characterisation of PEGylated PLGA nanoparticles comparing the nanoparticle bulk to the particle surface using UV/vis spectroscopy, SEC, ¹H NMR spectroscopy, and X-ray photoelectron spectroscopy / S. Spek, M. Haeuser, M.M. Schaefer, K. Langer // *Applied Surface Science* – 2015. – T. 347 – C.378–385.

224. Esmaili, Z. Development and characterization of electrosprayed nanoparticles for encapsulation of Curcumin / Z. Esmaili, S. Bayrami, F.A. Dorkoosh, H. Akbari Javar, E. Seyedjafari, S.S. Zargarian, V. Haddadi-Asl // *Journal of Biomedical Materials Research Part A* – 2018. – T. 106 – № 1 – C.285–292.

225. Schoeller, J. pH-Responsive Chitosan/Alginate Polyelectrolyte Complexes on Electrospun PLGA Nanofibers for Controlled Drug Release / J. Schoeller, F. Itel, K. Wuertz-Kozak, S. Gaiser, N. Luisier, D. Hegemann, S.J. Ferguson, G. Fortunato, R.M. Rossi // *Nanomaterials* – 2021. – T. 11 – № 7 – C.1850.

226. Greczynski, G. The same chemical state of carbon gives rise to two peaks in

X-ray photoelectron spectroscopy / G. Greczynski, L. Hultman // *Scientific Reports* – 2021. – T. 11 – № 1 – C.11195.

227. Irfan, M. Antimicrobial functionalization of cotton fabric with silver nanoclusters/silica composite coating via RF co-sputtering technique / M. Irfan, S. Perero, M. Miola, G. Maina, A. Ferri, M. Ferraris, C. Balagna // *Cellulose* – 2017. – T. 24 – № 5 – C.2331–2345.

228. Fang, D. Calibration of Binding Energy Positions with C1s for XPS Results / D. Fang, F. He, J. Xie, L. Xue // *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.* – 2020. – T. 35 – № 4 – C.711–718.

229. Achour, A. Influence of plasma functionalization treatment and gold nanoparticles on surface chemistry and wettability of reactive-sputtered TiO₂ thin films / A. Achour, M. Islam, S. Solaymani, S. Vizireanu, K. Saeed, G. Dinescu // *Applied Surface Science* – 2018. – T. 458 – C.678–685.

230. Neděla, O. Surface Modification of Polymer Substrates for Biomedical Applications / O. Neděla, P. Slepíčka, V. Švorčík // *Materials* – 2017. – T. 10 – № 10 – C.1115.

231. Qin, L. Ti–Cu Coatings Deposited by a Combination of HiPIMS and DC Magnetron Sputtering: The Role of Vacuum Annealing on Cu Diffusion, Microstructure, and Corrosion Resistance / L. Qin, D. Ma, Y. Li, P. Jing, B. Huang, F. Jing, D. Xie, Y. Leng, B. Akhavan, N. Huang // *Coatings* – 2020. – T. 10 – № 11 – C.1064.

232. Platzman, I. Oxidation of Polycrystalline Copper Thin Films at Ambient Conditions / I. Platzman, R. Brener, H. Haick, R. Tannenbaum // *The Journal of Physical Chemistry C* – 2008. – T. 112 – № 4 – C.1101–1108.

233. Peng, L. Preparation and characterization of copper-coated polyester fabric pretreated with laser by magnetron sputtering / L. Peng, R. Guo, J. Lan, S. Jiang, Z. Zhang, J. Xu // *Journal of Industrial Textiles* – 2018. – T. 48 – № 2 – C.482–493.

234. Huang, M.-L. Metallic coloration on polyester fabric with sputtered copper and copper oxides films / M.-L. Huang, Z. Cai, Y.-Z. Wu, S.-G. Lu, B.-S. Luo, Y.-H. Li // *Vacuum* – 2020. – T. 178 – C.109489.

235. Forrest, E. Influence of surface contamination on the wettability of heat transfer surfaces / E. Forrest, R. Schulze, C. Liu, D. Dombrowski // *International Journal of Heat and Mass Transfer* – 2015. – T. 91 – C.311–317.

236. Wojcieszak, D. Influence of Material Composition on Structure, Surface Properties and Biological Activity of Nanocrystalline Coatings Based on Cu and Ti / D. Wojcieszak, M. Osekowska, D. Kaczmarek, B. Szponar, M. Mazur, P. Mazur, A. Obstarczyk // *Coatings* – 2020. – T. 10 – № 4 – C.343.

237. Liu, S. Construction of a TiO₂/Cu₂O multifunctional coating on Ti-Cu alloy and its influence on the cell compatibility and antibacterial properties / S. Liu, Z. Zhang, J. Zhang, G. Qin, E. Zhang // *Surface and Coatings Technology* – 2021. – T. 421 – C.127438.

238. Pankey, G.A. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections / G.A. Pankey, L.D. Sabath // *Clinical Infectious Diseases* – 2004. – T. 38 – № 6 – C.864–870.

239. Chatterjee, A.K. Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles / A.K. Chatterjee, R. Chakraborty, T. Basu // *Nanotechnology* – 2014. – T. 25 – № 13 – C.135101.

240. Chan, Y.-H. Mechanical properties and antibacterial activity of copper doped diamond-like carbon films / Y.-H. Chan, C.-F. Huang, K.-L. Ou, P.-W. Peng // *Surface and Coatings Technology* – 2011. – T. 206 – № 6 – C.1037–1040.

241. Sadeghi-Kiakhani, M. Thermally stable antibacterial wool fabrics surface-decorated by TiON and TiON/Cu thin films / M. Sadeghi-Kiakhani, S. Khamseh, A. Rafie, S.M.F. Tekieh, P. Zarrintaj, M.R. Saeb // *Surface Innovations* – 2018. – T. 6 – №

4–5 – C.258–265.

242. Chen, H. Microstructure, corrosion properties and bio-compatibility of calcium zinc phosphate coating on pure iron for biomedical application / H. Chen, E. Zhang, K. Yang // *Materials Science and Engineering: C* – 2014. – T. 34 – C.201–206.

243. Huang, B. Multifunctional Ti-xCu coatings for cardiovascular interfaces: Control of microstructure and surface chemistry / B. Huang, F. Jing, B. Akhavan, L. Ji, Y. Leng, D. Xie, M. Bilek, N. Huang // *Materials Science and Engineering: C* – 2019. – T. 104 – C.109969.

244. Dayaghi, E. Magnesium-zinc scaffold loaded with tetracycline for tissue engineering application: In vitro cell biology and antibacterial activity assessment / E. Dayaghi, H.R. Bakhsheshi-Rad, E. Hamzah, A. Akhavan-Farid, A.F. Ismail, M. Aziz, E. Abdolahi // *Materials Science and Engineering: C* – 2019. – T. 102 – C.53–65.

245. Yuan, Y.-G. Effects of Silver Nanoparticles on Multiple Drug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from Mastitis-Infected Goats: An Alternative Approach for Antimicrobial Therapy / Y.-G. Yuan, Q.-L. Peng, S. Gurunathan // *International Journal of Molecular Sciences* – 2017. – T. 18 – № 3 – C.569.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)
Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050
Телефон (3822) 53 04 23;
Факс (3822) 53 33 09
e-mail: office@ssmu.ru
http://www.ssmu.ru
ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251
ИНН 7018013613 КПП 701701001

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
канд. мед. наук, доцент
А.О. Окорочков
2024



№ _____
На № _____ от _____

АКТ

внедрения в научную деятельность кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации результатов диссертационной работы Бадараева Арсалана Доржиевича на тему «Разработка нетканых полимерных материалов для регенерации слизистых оболочек полости рта», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.8 Физика конденсированного состояния и 2.2.12 Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя - Варакута Елены Юрьевны, заведующего кафедрой, д.м.н., доцент и члена Мельник Юлии Юрьевны, к.м.н., доцента кафедры удостоверяем, что результаты диссертационной работы Бадараева Арсалана Доржиевича внедрены в научную деятельность кафедры по дисциплине «Экспериментальная хирургия» в рамках изучения темы «Экспериментальная хирургия желудочно-кишечного тракта». Получены новые данные, касающиеся регенерации слизистых оболочек полости рта, которые позволяют сократить сроки лечения ран.

Председатель:
Зав. каф., д.м.н.,
доцент

 Е.Ю. Варакута

Члены комиссии:
доцент, к.м.н.

 Ю.Ю. Мельник

ПРИЛОЖЕНИЕ Б. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук



Адрес: 194064, г. Санкт-Петербург, просп. Тихорецкий, 4
Тел./факс: +7 (812) 297-18-29 / +7 (812) 297-18-29
E-mail: cellbio@incras.ru



УТВЕРЖДАЮ
директор ИНЦ РАН,
б.п., член-корр. РАН


А.Н. Томилин
МП

АКТ

о внедрении в научную деятельность результатов диссертационной работы Бадараева А.Д.
в Институт цитологии Российской академии наук

Настоящий акт составлен представителями Института цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН) на основании результатов работы, выполненной совместно с Томским политехническим университетом (ТПУ) в рамках выполнения проекта Российского фонда фундаментальных исследований под номером 19-29-04082 «Исследование механизмов запуска остеогенной дифференцировки мезенхимных стволовых клеток и формирования молекулярного портрета их остеогенного фенотипа».

Одной из задач было исследовать влияние плазменного модифицирования методом магнетронного распыления титановой мишени на физико-химические и биологические свойства нетканых материалов из биodeградируемых (поли(лактида-со-гликолида)) и биостабильных (сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом) полимеров, которые были изготовлены в Лаборатории плазменных гибридных систем ТПУ А.Д. Бадараевым методом электроспиннинга. Процесс плазменного модифицирования скаффолдов осуществлялся методом магнетронного напыления с использованием ионно-плазменной установки в научно-образовательном центре им. Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ. Биологические свойства скаффолдов исследовались в институте цитологии Российской академии. Было продемонстрировано, что улучшение смачивающих свойств поверхности скаффолдов улучшает колонизацию и пролиферацию фибробластов десны человека. Бадараевым А.Д. были описаны результаты физико-химических исследований, которые позволили получить фундаментальное понимание влияния плазменного модифицирования на физико-химические и биологические свойства исследуемых скаффолдов.

По результатам работы в журнале *Polymers* была опубликована совместная статья: Arsalan D. Badaraev, Dmitrii V. Sidelev, Anna I. Kozelskaya, Evgeny N. Bolbasov, Tuan-Hoang Tran, Alexey V. Nashchekin, Anna B. Malashicheva, Sven Rutkowski, Sergei I. Tverdokhlebov. Surface Modification of Electrospun Bioresorbable and Biostable Scaffolds by Pulsed DC Magnetron Sputtering of Titanium for Gingival Tissue Regeneration. *Polymers*. 2022. 4922 – 15 November. – DOI: 10.3390/polym14224922, Q1.

Разработанные в диссертационной работе А.Д. Бадараева скаффолды с модифицированной поверхностью могут быть использованы в качестве материалов для медицинских изделий, предназначенных для регенерации мягких тканей, восстановления дефектов слизистых оболочек полости рта и проведения терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций живых тканей.

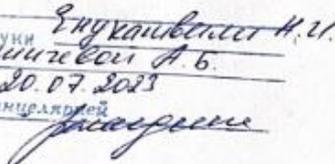
Главный научный сотрудник,
зав. лаб. Регенеративной биомедицины
Института Цитологии РАН, д.б.н.

 А.Б. Малашичева

Ведущий научный сотрудник, и.о. зав. лаб.
Лаборатории не кодирующей ДНК
Института цитологии РАН, к.б.н.

 Н.И. Енукашвили




Енукашвили Н.И.
Малашичева А.Б.
20.07.2023
Т. КАНУЛАДЗЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ В. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ФИЗИКИ ПРОЧНОСТИ И МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИФПМ СО РАН)

УТВЕРЖДАЮ

И.О. Директор ИФПМ СО РАН,
д-р техн. наук



А.И. ДМИТРИЕВ

Е.А. Колубаев

«28» 07 2023 г.

АКТ

о внедрении в научную деятельность результатов диссертационной работы Бадараева А.Д.
в Институте физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской
академии наук (ИФПМ СО РАН)



Настоящий акт составлен представителями ИФПМ СО РАН на основании результатов работы, выполненной совместно с Томским политехническим университетом (ТПУ), в рамках проекта ИФПМ СО РАН № FWRW-2021-0007 «Научные основы создания функциональных покрытий и объемных наноструктурных материалов биомедицинского назначения с использованием аддитивных технологий, композиций гетерофазных наночастиц с полимерами и объемных нанокристаллических псевдосплавов».

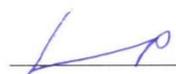
Одной из задач, решаемых в рамках проекта, являлось придание поверхности биodeградируемых скаффолдов, изготовленных из поли(лактида-со-гликолида) (ПЛГА) методом электроспиннинга, антибактериальных свойств и сохранение биосовместимости. Скаффолды были изготовлены Бадараевым А.Д. в лаборатории плазменных гибридных систем ИЯТШ ТПУ. Режимы модифицирования поверхности ПЛГА скаффолдов методом магнетронного со-распыления были разработаны в НОЦ им. Б.П. Вейнберга с участием Бадараева А.Д. В ходе разработки модифицированных ПЛГА скаффолдов были

установлены фундаментальные принципы влияния плазменного модифицирования методом со-распыления титановой и медной мишеней на антибактериальные свойства скаффолдов. Антибактериальные исследования, проведенные в ИФПМ СО РАН, показали, что поверхностно-модифицированные ПЛГА скаффолды с антибактериальными свойствами позволяют уменьшить численность метицилин-резистивного золотистого стафилококка на 40-90 %. Эти результаты соответствуют п.6.4 Общих медико-технических требований «Нетканые полимерные материалы (скаффолды), предназначенные для регенерации мягких тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта», разработанных совместно ТПУ, ИФПМ СО РАН и организацией – индустриальным партнером ООО «Аквелит».

Результаты совместных исследований опубликованы в журнале *Pharmaceutics*: Arsalan D. Badaraev, Marat I. Lerner, Olga V. Bakina, Dmitrii V. Sidelev, Tuan-Hoang Tran, Maksim G. Krinitcyn, Anna B. Malashicheva, Elena G. Cherempey, Galina B. Slepchenko, Anna I. Kozelskaya, Sven Rutkowski, Sergei I. Tverdokhlebov. *Antibacterial Activity and Cytocompatibility of Electrospun PLGA Scaffolds Surface-Modified by Pulsed DC Magnetron Co-Sputtering of Copper and Titanium*. *Pharmaceutics*. 2023. 939. – 15 March. – DOI: 10.3390/pharmaceutics15030939, Q1.

Разработанные А.Д. Бадараевым полимерные скаффолды имеют перспективу применения в качестве медицинских изделий, предназначенных для регенерации мягких тканей, дефектов слизистых оболочек полости рта и для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций живых тканей.

Заведующий лабораторией физикохимии
высокодисперсных материалов ИФПМ, г.н.с., д.т.н.

 М.И. Лернер

Лаборатория нанобиоинженерии, с.н.с., д.т.н.

 О.В. Бакина

**ПРИЛОЖЕНИЕ Г. МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ НА
РАЗРАБОТКУ НЕТКАНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ
МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА**

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБНУ «Институт
физики прочности и
материаловедения
Сибирского отделения
Российской академии наук»
Е.А. Колубаев



УТВЕРЖДАЮ
Директор
ООО «Аквелит»

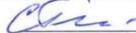


УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЯТШ Томского
политехнического
университета



**Техническое задание
(общие медико-технические требования)**

**Нетканые полимерные материалы (скаффолды), предназначенные для
регенерации мягкой тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта**

Научный руководитель аспиранта:
доцент НОЦ Б.П. Вейнберга НИ ТПУ,
 С.И. Твердохлебов

Ответственный исполнитель
аспирант (соискатель)
НОЦ Б.П. Вейнберга НИ ТПУ
 А.Д. Бадараев

1 Наименование и область применения изделия:

1.1. Неактивные хирургические имплантаты ГОСТ Р ИСО 14630-2011 [1].

2 Основание для разработки

2.1. Тема диссертационной работы А.Д. Бадараева. А также РФФИ, соглашение № 16-13-10239 от 18.05.2016, ФЦП № 14.575.21.0140 от 26.09.2017, проект Приоритет-2030-НИП/ИЗ-011-0000-2022 (н.р. С.И. Твердохлебов).

Внедрение в опытное промышленное производство технологии изготовления нетканых полимерных материалов (скаффолдов), предназначенных для регенерации мягких тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта.

3 Исполнители разработки

3.1. Полное наименование

организации-разработчика: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет (ФГАОУ ВО НИ ТПУ);

организации, проводящей антибактериальные исследования: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук» (ИФПМ СО РАН).

организации – индустриальные партнеры: ООО «Аквелит».

4 Цель и назначение разработки

4.1. Разработка нетканых полимерных материалов (скаффолдов), предназначенных для регенерации мягких тканей, дефектов слизистых оболочек полости рта и применения в качестве антибактериальных повязок (пластырей), удовлетворяющих настоящему техническому заданию.

5 Описание

Нетканые полимерные материалы (скаффолды) в зависимости от назначения могут изготавливаться из биостабильных и биodeградируемых полимеров. Нетканые материалы изготавливаются методом электроформования (электроспиннинга) и представляют собой хаотично переплетенные волокна толщиной от сотен нанометров до нескольких микрометров.

В качестве биостабильного полимерного материала применяется сополимер винилиденфторида с тетрафторэтиленом (далее ВДФ-ТеФЭ).

В качестве биodeградируемых полимерных материалов применяется поли(лактид-со-гликолид) (далее ПЛГА). Среднечисловая и средневесовая молекулярные массы ПЛГА составляют 202000 г/моль и 338000 г/моль, соответственно.

Для придания антибактериальных свойств, улучшения гидрофильности и биосовместимости с живыми тканями проводится модифицирование материалов в плазме магнетронного разряда, возникающего при магнетронном распылении медной и/или титановой мишеней. Модифицированная сторона материалов приобретает цвет от светло серого до коричневого, Модифицированная поверхность серого цвета придает скаффолдам гидрофильные свойства. Скаффолды не содержат в себе лекарственных препаратов и материалов человеческого происхождения.

Исходные размеры изделия представляют собой лист формата А4 (210 ± 10 мм \times 297 ± 10 мм). Толщина для рассматриваемых скаффолдов варьируется от 100 – 300 мкм. Толщину скаффолдов можно изменять в широком диапазоне (от 50 мкм до 500 мкм) в зависимости от требований заказчика.

Скаффолды целостны, на них не наблюдается различных разрывов и других механических повреждений, также поверхность скаффолдов чистая без капель и загрязнений.

Фиксация скаффолдов на дефектах слизистых оболочек полости рта осуществляется шовным материалом. Фиксация скаффолдов на открытые раневые поверхности мягких тканей выполняется путём их перевязки бинтами или другими перевязочными материалами. Фиксацию скаффолдов для регенерации небольших открытых раневых дефектов проводить с использованием пластырей или телесного скотча.

Биодеградация ПЛГА скаффолдов происходит в течение 3-6 месяцев. Биостабильные ВДФ-ТеФЭ скаффолды не деградируют в среде организма, поэтому требуется их удаление.

6 Физико-химические требования

6.1. Средний диаметр волокон скаффолдов должен лежать в диапазоне от 0,5 до 2 мкм.

6.2. Процесс плазменного модифицирования должен сохранять исходное состояние скаффолдов без каких-либо изменений, а поверхность должна оставаться свободной от любых дефектов, таких как капли, ожоги или оплавления.

6.3. Модифицированная титаном сторона скаффолдов должна обладать гидрофильными свойствами, краевой угол смачивания водой не должна превышать 70°.

6.4. Модифицированные с применением меди скаффолды должны обладать антибактериальными свойствами, подавлять численность бактерий от 40 % согласно ISO 20743:2013.

6.5. Пределы прочности скаффолдов после модифицирования должны быть не менее $2,5 \pm 0,5$ МПа.

6.6. Поверхностно-модифицированные скаффолды не должны содержать остаточных органических растворителей.

7 Медицинские требования

7.1 Требования к выполнению изделием функциональных задач в лечебно-диагностическом процессе. Оценка медицинских последствий нарушения функционирования изделия во время его применения.

7.1.1. Поверхностно-модифицированные скаффолды будут постоянно контактировать со слюной человека, внутренней средой полости рта и микрофлорой раневой поверхности. Медицинские изделия предназначены для регенерации мягких тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта и могут применяться для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций живых тканей.

7.1.2. Разрабатываемые поверхностно-модифицированные биостабильные и биодеградируемые скаффолды в зависимости от степени потенциального риска их применения в медицинских целях относятся к классу 3 (медицинские изделия с высокой степенью риска), согласно ГОСТ Р 51609-2000 [1].

7.1.3. Нарушение функционирования медицинских изделий, представляющих собой нетканые поверхностно-модифицированные полимерные скаффолды, может быть связано с:

7.1.3.1. Использованием нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов после нормативного срока хранения;

7.1.3.2. Нарушением технологии установки в полость рта или на открытой раневой поверхности нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов.

7.1.4. Потенциальные последствия, возникающие в результате нарушения функционирования медицинских изделий во время его использования, включают в себя [2,3]:

7.1.4.1. Нарушение биосовместимости, которое может возникнуть в результате острой и хронической токсичности, раздражающего и сенсибилизирующего действия. Для изделий, подпадающих под класс опасности 3, предписаны рекомендуемые методы оценки биологического воздействия на эти материалы согласно ГОСТ ISO 10993-1-2021 [4] и методы оценки иммунотоксичности согласно ГОСТ ISO/TS 10993-20-2011 [5];

7.1.4.2. Нарушение механической целостности поверхностно-модифицированных скаффолдов.

7.2. Физические, химические, механические и медико-биологические свойства разрабатываемых медицинских изделий, на которых основан принцип их действия.

7.2.1. Принцип действия нетканых скаффолдов основан на интеграции физических, химических, механических и медико-биологических свойств, лежащих в основе восстановления мягких тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта и открытых раневых поверхностей.

7.2.2. Физические свойства нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов проявляются в волокнистой морфологии их поверхности, которая сохраняется после их модифицирования. Морфология скаффолдов обладает развитым трёхмерным профилем, что позволяет имитировать топологию внеклеточного матрикса. При визуальном контроле скаффолдов они не должны иметь оплавлений, прожогов, разрывов и других дефектов.

7.2.3. Химические свойства нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов проявляются в нанесении на поверхности их волокон металлических соединений из титана и меди.

7.2.4. Механические свойства нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов проявляются в их высоких показателях предела прочности и относительного удлинения, которые не становятся хуже после их плазменного модифицирования.

7.2.5. Медико-биологические свойства нетканых поверхностно-модифицированных скаффолдов проявляются в усилении клеточной адгезии и проявлении антибактериальных свойств после их модифицирования.

7.3. Требования об отсутствии отрицательных побочных эффектов и ограничения в результате применения разрабатываемых медицинских изделий.

7.3.1. Изготовленные поверхностно-модифицированные скаффолды не должны вызывать иммунотоксических осложнений согласно ГОСТ ISO/TS 10993-20-2011 [5].

7.3.2. Поверхностно-модифицированные скаффолды не следует использовать для пациентов, у которых наблюдается аллергическая реакция на медь и титан.

7.3.3. Поверхностно-модифицированные скаффолды не предназначены для лечения гнойных ран, в которых наблюдается высокая концентрация болезнетворных микроорганизмов. Скаффолды могут применяться для профилактики таких инфекций и воспалений.

7.3.4. Не допускается применение скаффолдов, на которых наблюдаются различные дефекты, механические повреждения, оплавления и прожоги.

7.3.5. Не допускается применение скаффолдов, на которых наблюдаются различные загрязнения.

7.3.6. Не допускается повторное применение скаффолдов, которые уже были внедрены в организм пациента.

7.4. Требования устойчивости к воздействиям медико-биологической среды применения или условий использования медицинских изделий.

7.4.1. Изготовленные поверхностно-модифицированные скаффолды должны сохранять механическую стабильность в искусственной слюне с составом, отмеченным в ГОСТ ISO 10993-15-2011 [6], на срок до 1 месяца.

7.4.2. Нетканые скаффолды должны выдерживать стерилизацию с использованием этиленоксида, которую проводят в соответствии с ГОСТ ISO 11135-2017 [7].

7.5. Токсикологические требования к медицинским изделиям.

7.5.1. Поверхностно-модифицированные скаффолды по общетоксическому действию должны соответствовать ГОСТ ISO 10993-11-2021 [8].

7.5.2. Поверхностно-модифицированные скаффолды по цитотоксичности in vitro должны отвечать требованиям ГОСТ ISO 10993-11-2011 [9].

7.5.3. Поверхностно-модифицированные скаффолды при оценке местного действия после имплантации должны соответствовать требованиям ГОСТ ISO 10993-6-2021 [10].

7.5.4. Предельно допустимые количества химических веществ, выделяющихся из материалов, не должны превышать значений, указанных в таблице 1. Медь, как антибактериальный агент, контролируется при выдержке в дистиллированной воде в течение 24 часов.

Таблица 1. Гигиенические показатели и нормативы веществ, выделяющихся из материалов, изделий согласно ГН 2.3.3.972-00 [11].

Контролируемый показатель	Допустимое значение содержания вещества в водной вытяжке, мг/л
Никель	до 0,100
Железо	до 0,300
Серебро	до 0,050
Олово	до 2,000
Алюминий	до 0,500
Цинк	до 1,000
Титан	до 0,100
Хром	до 0,100
Медь	до 1,000
Марганец	до 0,100
Кобальт	до 0,100
Свинец	до 0,030

8. Показания к применению

Поверхностно-модифицированные скаффолды предназначены для регенерации мягких тканей и дефектов слизистых оболочек полости рта и могут применяться для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций живых тканей.

Перечень нормативно-технической документации:

1. ГОСТ Р 51609-2000. Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования. – Введ. 2001-07-01. – М.: Изд-во стандартов, 2001.-15 с.

2. Аронов А.М., Пичугин В.Ф., Твердохлебов С.И. Методические основы разработки и организации производства медицинских изделий. - Томск: Изд-во «Ветер», 2007.- 334 с.

3. Биосовместимые материалы / Под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. - М.: Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2011.-544 с.

4. ГОСТ ISO 10993-1-2021. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска. - Введ. 2022-03-01.-М.: Российский институт стандартизации, 2021.-44 с.

5. ГОСТ ISO/TS 10993-20-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 20. Принципы и методы исследования

иммунотоксичности медицинских изделий. Введ. 2013-01-01.- М.: Стандартинформ, 2014.-20 с.

6. ГОСТ ISO 10993-15-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 15. Идентификация и количественное определение продуктов деградации из металлов и сплавов. Введ. 2013-01-01.- М.: Стандартинформ, 2013.-22 с.

7. ГОСТ ISO 11135-2017 Стерилизация медицинской продукции. Этиленоксид. Требования к разработке, валидации и текущему управлению процессом стерилизации медицинских изделий. Введ. 2018-09-01. - М.: Стандартинформ, 2017.-69 с.

8. ГОСТ ISO 10993-11-2021 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследования общетоксического действия. Введ. 2022-03-01.- М.: Российский институт стандартизации, 2021.-34 с.

9. ГОСТ ISO 10993-11-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. Введ. 2013-01-01.- М.: Стандартинформ, 2010.-16 с.

10. ГОСТ ISO 10993-6-2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации. Введ. 2022-03-01.- М.: Российский институт стандартизации, 2021.-34 с.

11. ГН 2.3.3.972-00 «Предельно допустимые количества химических веществ, выделяющихся из материалов, контактирующих с пищевыми продуктами» – М.: Минздрав России, 2000 -57 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д. ПРОТОКОЛ СОВМЕСТНОГО СЕМИНАРА НАУЧНЫХ КОЛЛЕКТИВОВ ИЗ ТПУ И СИБГМУ

Протокол совместного семинара

сотрудников федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ) и федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» (СИБГМУ)

18 октября 2023 г.

Присутствовали:

- Тазин Иван Дмитриевич, д.м.н., профессор кафедры стоматологии СИБГМУ.
- Твердохлебов Сергей Иванович, к.ф.-м.н., исполняющий обязанности руководителя лаборатории плазменных гибридных систем ТПУ, доцент научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга.
- Бадараев Арсалан Доржиевич, младший научный сотрудник лаборатории плазменных гибридных систем ТПУ.
- студенты кафедры стоматологии СибГМУ.

Слушали:

Доклад Бадараева Арсалана Доржиевича о медицинских материалах, разработанных при выполнении его диссертационной работы на тему «Разработка нетканых полимерных материалов для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта», и о вариантах их применения в стоматологии.

По результатам обсуждения были сделаны следующие рекомендации:

- Для лечения рецессии дёсен рекомендуется иссекать мягкие ткани и создавать лоскут, а внутрь образованного дефекта помещать полимерный материал.
- Полимерный материал, предназначенный для лечения рецессии дёсен, должен способствовать восстановлению мягких тканей в области рецессии.
- Полимерный материал не должен требовать повторной операции по его удалению.
- Полимерный материал должен минимизировать вероятность возникновения послеоперационных осложнений.

Заключение о возможности применения медицинских материалов, разработанных при выполнении диссертационной работы А.Д. Бадараева на тему «Разработка нетканых полимерных материалов для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта»:

Материалы на основе сополимера поли(лактида-со-гликолида) (ПЛГА), модифицированные титаном методом магнетронного распыления, могут быть использованы для лечения рецессии дёсен, поскольку они способны разлагаться в среде организма и обладают высоким регенераторным потенциалом, что было показано в экспериментах *in vitro* с использованием фибробластов десны человека.

ПЛГА материалы, модифицированные методом магнетронного сораспыления меди и титана, могут быть использованы для лечения рецессии дёсен, поскольку у них наблюдаются антибактериальные свойства, что было показано в экспериментах *in vitro* с использованием метициллин-резистентного золотистого стафилококка. Такие свойства позволяют уменьшить вероятность возникновения инфекционных осложнений, вызванных бактериями с резистентностью к антибиотикам.

Тазин И.Д., д.м.н.,
профессор кафедры стоматологии СИБГМУ



подпись

ПРИЛОЖЕНИЕ Е. АКТ ВНЕДРЕНИЯ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

TOMSK POLYTECHNIC UNIVERSITY  **ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
 федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего образования
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)



УТВЕРЖДАЮ
 Директор ИЯТШ ТПУ
 / О.Ю. Долматов
 «05» _____ 5 _____ 2023 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Мы, нижеподписавшиеся, заведующий кафедрой – руководитель научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга на правах кафедры, д.ф.-м.н., профессор Кривообоков, профессор научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга, д.ф.-м.н., Г.А. Блейхер, доцент научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга, к.ф.-м.н., С.И. Твердохлебов, подтверждаем, что результаты диссертационной работы А.Д. Бадараева на тему «Разработка нетканых полимерных материалов для регенерации дефектов слизистых оболочек полости рта», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 2.2.12 «Приборы, системы и изделия медицинского назначения» используются в учебном процессе Инженерной школы ядерных технологий, НОЦ Б.П. Вейнберга при изучении дисциплины «Пучковое и плазменное модифицирование поверхности», преподаваемой студентам, обучающимся по специальности 14.03.02 «Ядерные физика и технологии».

На основании диссертационной работы было опубликовано следующее методическое пособие: Изготовление, модифицирование и исследование материалов биомедицинского назначения: сборник методических указаний / Твердохлебов С. И., Федоткин А. Ю., Бадараев А. Д., Марьин П.В. [и др.]; Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Инженерная школа ядерных технологий, Лаборатория плазменных гибридных систем. — 1 компьютерный файл (pdf; 8.3 МВ). — Томск: Изд-во ТПУ, 2022. — Заглавие с титульного экрана. — Электронная версия печатной публикации. — Режим доступа: из корпоративной сети ТПУ. — ISBN 978-5-4387-1109-4.

Заведующий кафедрой –
руководитель НОЦ Б.П. Вейнберга, д.ф.-м.н.



В.П. Кривообоков

Профессор НОЦ Б.П. Вейнберга, д.ф.-м.н.



Г.А. Блейхер

Доцент НОЦ Б.П. Вейнберга, к.ф.-м.н.



С.И. Твердохлебов

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. РЕЗУЛЬТАТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «ПРОГРАММА ДЛЯ ЭВМ»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2023661050

**Моделирование антибактериальных свойств
композитных материалов в зависимости от
концентрации антибактериального агента**

Правообладатель: *федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский
политехнический университет» (RU)*

Авторы: *Бадараев Арслан Доржиевич (RU), Твердохлебов
Сергей Иванович (RU)*

Заявка № 2023660607

Дата поступления 26 мая 2023 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 26 мая 2023 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*



ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат: 42906610613511640a96183b73b4aa7
Владимир **Зубов** **Сергей**
Действителен с 10.05.2023 по 02.05.2024

Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ФУНКЦИОНАЛ РАБОТЫ ПРОГРАММЫ

Для работы в программе необходимо запустить исполняемый файл с расширением .exe под названием «Bacterial reduction analysis», находящийся в папке «Patent – Testing antibacterial properties». Перед запуском необходимо убедиться, что в папке «Experimental Data» есть excel документ с расширением .xlsx, в котором находятся данные антибактериальных свойств, необходимые для отрисовки и прогнозирования. В excel документе, в первом столбце должны находиться значения концентрации антибактериального агента (%), во втором столбце должны быть показатели степени подавления бактерий (%).

После запуска программы появится графический интерфейс с тремя полями и двумя кнопками (Рисунок 31).

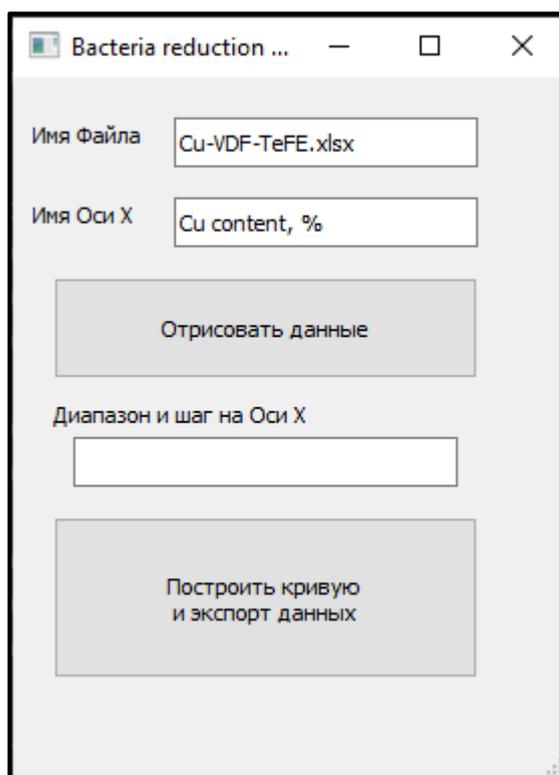


Рисунок 31 – Графический интерфейс пользователя программы для ЭВМ «Моделирование антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента»

В пустое поле «Имя Файла» необходимо прописать название excel файла и его расширение, как это показано на рисунке 3.1. Затем в пустое поле «Имя Оси X»

можно прописать желаемое название оси абсцисс ОХ. Если необходимо только отрисовать график зависимости экспериментальных данных антибактериальных свойств от концентрации антибактериального агента, то для этого нужно нажать на кнопку «Отрисовать данные» (Рисунок 31). В результат, программа выдаст график зависимости антибактериальных свойств от концентрации полимера (Рисунок 32), построенный на основе данных, находящихся в excel файле.

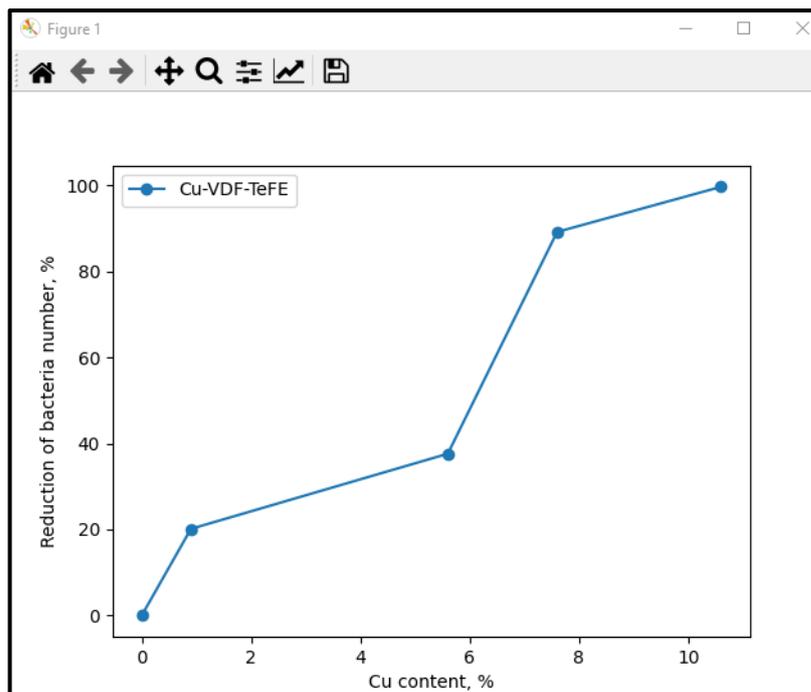


Рисунок 32 – График зависимости экспериментальных данных, расположенных в excel файле, отрисованных в программе для ЭВМ

Если же необходимо смоделировать данные, то в третье окно программы «Диапазон и шаг на Оси X» необходимо через запятую прописать начало, конец и шаг диапазона, для которых будет строиться прогностическая кривая. Пример показан на рисунке 33.

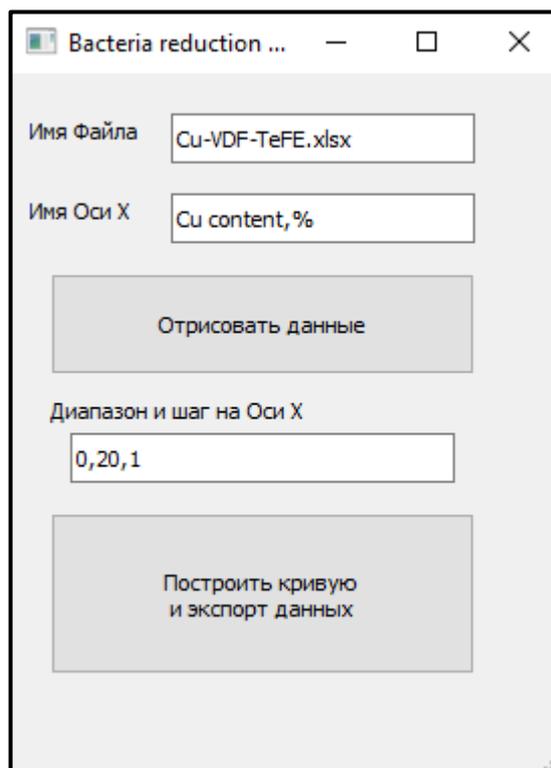


Рисунок 33 – Графический интерфейс пользователя программы для ЭВМ с заданным диапазоном и шагом на Оси X (третье окно)

После правильного заполнения всех трёх окон, необходимо нажать на кнопку «Построить кривую и экспорт данных» в результате чего программа, помимо экспериментальных данных, построит для них прогностическую кривую, как это показано на рисунке 34.

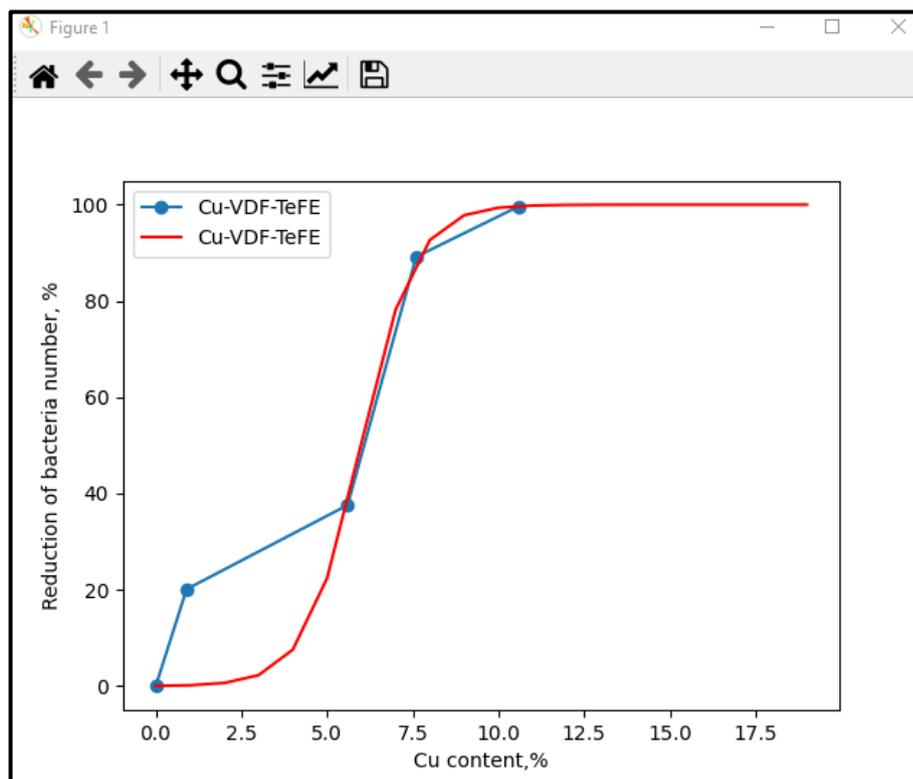


Рисунок 34 – График, построенный на базе экспериментальных данных, расположенных в excel файле, (синяя ломанная кривая с точками) и график, смоделированный с помощью программы для ЭВМ (красная кривая)

Данные в численном выражении сохраняются в формате .txt в папке «Approximated Data». Смоделированные данные в этой папке имеют название «fitted_dataX», где X – натуральное число. Экспериментальные данные хранятся в текстовых файлах с названиями «raw_dataX», где X – также произвольное натуральное число от 0 до бесконечности.

Полученные данные можно использовать для построения собственных графиков в других программных продуктах.