

**ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**



На правах рукописи

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'B. Badaev', is placed to the right of the text 'На правах рукописи'.

Бадараев Арсалан Доржиевич

**РАЗРАБОТКА НЕТКАНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ
РЕГЕНЕРАЦИИ ДЕФЕКТОВ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК
ПОЛОСТИ РТА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата технических наук

1.3.8 – Физика конденсированного состояния,
2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Томск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель:	Твердохлебов Сергей Иванович кандидат физико-математических наук, НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ, доцент
Научный консультант:	Больбасов Евгений Николаевич кандидат технических наук, НОЦ Б. П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ, научный сотрудник
Официальные оппоненты:	Седельникова Мария Борисовна доктор технических наук, ИФПМ СО РАН, старший научный сотрудник Иванов Юрий Федорович доктор физико-математических наук, профессор, ИСЭ СО РАН, главный научный сотрудник

Защита состоится «5» июня 2024 г., в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МДС.ТПУ.10 на базе федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ФГАОУ ВПО НИ ТПУ) по адресу: 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 2а, строение 4, аудитория 245.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-кода.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Учёный секретарь
Диссертационного совета МДС.ТПУ.10
доктор технических наук

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized cursive letters, likely belonging to S.A. Gyngazov.

С.А. Гынгазов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 аутоотрансплантата, 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 аутоотрансплантатов 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 мышцы – 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 $\sim 0,2 \text{ Вт/см}^2$, током $0,2 \text{ А}$ 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 $\sim 10,6 \pm 0,5 \text{ ат. \%}$ 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 $\sim 12 \text{ Вт/см}^2$, токе $\sim 1,5 \text{ А}$ 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 , TiO_2 , Ti_2O_3 , 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 $\sim 1 \div 3 \text{ Вт/см}^2$ и током $\sim 0,15 \div 0,45 \text{ А}$; с удельной мощностью разряда на титановой мишени $\sim 8 \div 12 \text{ Вт/см}^2$ и током $\sim 1,1 \div 1,5 \text{ А}$ при длительности модифицирования $\sim 20 \div 30$ минут, сохраняются их средний диаметр волокон, краевой угол смачивания и механические свойства. При увеличении соотношения меди к титану на ПЛГА скаффолдах в $\sim 3,5$ 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 $AA = \left(\frac{1}{1 + e^{-a \cdot (x-b)}} \right) \cdot 100\%$ позволяет прогнозировать антибактериальную активность (AA) 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 объемом 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. Большасовым. Работы по модифицированию ПЛГА скаффолдов титаном и медью-титаном на 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: РНФ, 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. Объём диссертации составляет 217 страниц, включая 68 рисунков, 6 таблиц и 8 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении определена актуальность работы и её степень разработанности, сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В первой главе представлен литературный обзор, посвящённый строению слизистых оболочек полости рта, методам лечения и профилактики наиболее распространённых заболеваний (афтозный стоматит, рецессия дёсен). Показана эффективность использования метода электроспиннинга для создания материалов, предназначенных для регенерации живых тканей, в частности слизистых оболочек полости рта. Объяснена перспектива применения ВДФ-ТеФЭ для лечения дефектов, вызванных афтозным стоматитом, а ПЛГА – рецессией дёсен. Показано, что медные и титановые тонкие плёнки являются эффективным способом придания антибактериальных и гидрофильных свойств, соответственно. Была объяснена актуальность использования метода магнетронного распыления для нанесения металлосодержащих тонких плёнок. На основании проделанного литературного обзора была поставлена цель и задачи диссертационной работы.

Во второй главе рассмотрены материалы, методы и оборудование, которые были применены для изготовления нетканых материалов на основе:

- ВДФ-ТеФЭ и их последующего модифицирования методом магнетронного распыления медной мишени,
- ПЛГА и их последующего модифицирования методами магнетронного распыления титана и одновременного магнетронного распыления меди и титана.

Нетканые материалы были изготовлены на установке NANON-01A (MECC Co., Япония) с использованием цилиндрического сборочного коллектора шириной 210 мм и диаметром 100 мм. Биостабильные мембраны формовались из 5 мас. % прядильного раствора ВДФ-ТеФЭ (АО «Галополимер», г. Кирово-Чепецк, Россия) в ацетоне (C_3H_6O , Экос-1, г. Москва, Россия) при следующих режимах: напряжение 20 кВ; расстояние между иглой и коллектором 150 мм; скорость расхода раствора 6 мл/ч; тип иглы 22 G; скорость вращения коллектора 200 об/мин. Биodeградируемые скаффолды формовались из 4 мас. % прядильного раствора ПЛГА (85/15, PURASORB® PLG 8523, Corbion Purac, Амстердам, Нидерланды) при следующих режимах: напряжение 22 кВ; расстояние между иглой и коллектором 150 мм; скорость расхода раствора 4 мл/ч; тип иглы 20 G; скорость вращения коллектора 200 об/мин.

Модифицирование ВДФ-ТеФЭ мембран методом магнетронного распыления меди (Cu, чистота 99,99%) в атмосфере аргона (Ar, чистота 99,99%) проводилось с

использованием установки Катод-1М при следующих режимах: мощность разряда – 40 Вт; ток – 0,2 А; плотность мощности – 0,18 Вт/см²; форма мишени – треугольник со скошенными углами; площадь мишени – 224 см²; толщина мишени – 6 мм; предварительное давление в камере – 10⁻³ Па; рабочее давление в камере – 0,7 Па; расстояние между образцами и мишенью – 40 мм; длительность модифицирования скаффолдов – 15, 30, 60, 120 секунд. В дальнейшем модифицированные ВДФ-ТеФЭ мембраны будут обозначаться как: «15», «30», «60» и «120».

Модифицирование ПЛГА скаффолдов методами магнетронного распыления титана (Ti, чистота 99,95%) и одновременного распыления меди (Cu, чистота 99,95%) и титана (Ti, чистота 99,95%) в атмосфере аргона (Ar, чистота 99,99%) проводилось в вакуумной ионно-плазменной установке, оснащённой системой магнетронного распыления, разработанной в НОЦ Б.П. Вейнберга ТПУ. Для питания магнетронов с медной и титановой мишенями были использованы два независимых источника питания APEL-M-5PDC, работающих в униполярном режиме с частотой импульсов 100 кГц и коэффициентом заполнения 70%. При модифицировании ПЛГА скаффолдов использовали мишени в виде дисков площадью – 64 см² и толщиной – 8 мм, предварительное и рабочее давление в камере – 10⁻² Па и 0,3 Па, соответственно, расстояние между образцами и мишенью – 150 мм.

Технологические режимы модифицирования ПЛГА скаффолдов в ионно-плазменной установке приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Режимы модифицирования ПЛГА скаффолдов методом магнетронного распыления титана и одновременного распыления меди и титана

Образец (режим модифицирования)	Мощность разряда, Вт		Плотность мощности, Вт/см ²		Напряжение, В		Ток, А		Длительность модифицирования, 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

В дальнейшем модифицированные ПЛГА скаффолды будут обозначаться как: «Ti», «0,33Cu-Ti», «1Cu-Ti» и «1,5Cu-Ti» (цифрами обозначены соотношения Cu/Ti в атомных процентах на поверхности модифицированных образцов).

Во второй главе также приведены методы, использованные для исследований физико-химических, механических, структурных, антибактериальных и биологических свойств ВДФ-ТеФЭ мембран и ПЛГА скаффолдов. Для анализа морфологии поверхности скаффолдов были применены методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и атомно-силовой микроскопии (АСМ). Исследование элементного и химического состава скаффолдов проводилось методами энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии

(ЭДРС), рамановской спектроскопии и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Механические свойства нетканых материалов были определены методом одноосного растяжения на разрывной машине Instron 3343 (Illinois Tool Works, Гленвью, Иллинойс, США). Смачиваемость водой определялась методом "сидячей капли" на установке DSA-25 (Krüss, Гамбург, Германия). Выход ионов меди в деионизированную воду определяли методом инверсионной вольтамперометрии. Медико-биологические свойства модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран были оценены *in vitro* на золотистом стафилококке (St. Aureus, штамм ATCC 25923, Всероссийская коллекция микроорганизмов, Москва, Россия) в соответствии со стандартом ISO 20743:2013 «Текстиль. Определение антибактериальной активности текстильных изделий» и исследованы *in vivo* на лабораторных крысах линии Wistar. Биологические свойства модифицированных титаном ПЛГА скаффолдов были исследованы *in vitro* на культуре фибробластов десны человека (Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия). Медико-биологические свойства модифицированных медью и титаном ПЛГА скаффолдов были определены *in vitro* на метициллин-резистентном золотистом стафилококке (MRSA, штамм AATCC 43300, БиоВитрум, Новосибирск, Россия), на фибробластах десны человека (Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия) и на линии эмбриональных фибробластов мыши NIH/3T3 (ATCC CRL-1658, Вектор, Новосибирск, Россия).

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.).

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

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

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.

Статистическая обработка результатов была проведена с использованием программ OriginPro® 2021 (OriginLab, Нортгемптон, США) и Statistica 6.0 (StatSoft, Талса, США).

В третьей главе представлены результаты структурно-морфологических, физико-химических, антибактериальных (*in vitro*) и медико-биологических (*in vivo*) свойств ВДФ-ТеФЭ мембран, изготовленных методом электроспиннинга и модифицированных медью методом магнетронного распыления.

На $\text{Cu}2p_{3/2}$ спектрах немодифицированных образцов отсутствуют пики меди (рис. 1, н). На РФЭС спектрах модифицированных в течение 15 секунд ВДФ-ТеФЭ мембран можно наблюдать четыре компоненты (рис. 1, 15). Наиболее интенсивная красная

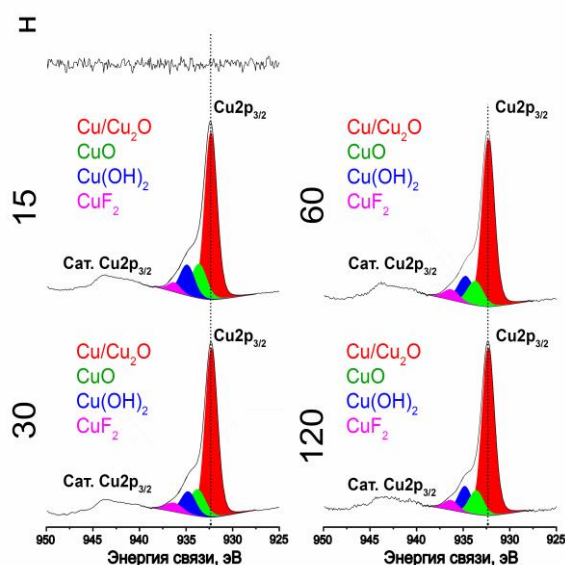


Рисунок 1 – $\text{Cu}2p_{3/2}$ РФЭС спектры немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) мембран. Условным обозначением "Сат. $\text{Cu}2p_{3/2}$ " отмечены сателлитные пики $\text{Cu}2p_{3/2}$

компонента с пиком в точке 932,3 эВ указывает на наличие металлической меди (Cu) и оксида меди I (Cu_2O). Зеленая компонента с максимумом в области 933,6 эВ характеризует оксид меди II (CuO). Синяя и фиолетовая компоненты с максимумами в точках 934,9 эВ и 936,2 эВ указывают на наличие гидроксида меди ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) и фторида меди (CuF_2), соответственно. Сателлитный пик (Сат. $\text{Cu}2p_{3/2}$) в области энергий 938 ÷ 948 эВ свидетельствует о присутствии двухвалентных соединений меди.

Четыре компоненты ($\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}$, CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ и CuF_2) также характерны для ВДФ-ТеФЭ мембран, модифицированных в течение 30 ÷ 120 секунд (рис. 1).

Образование композитных тонких пленок, состоящих из Cu, Cu_2O , CuO , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ и CuF_2 на поверхности ВДФ-ТеФЭ мембран, можно объяснить взаимодействием 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. Соединение CuF_2 может возникать в результате взаимодействия ионов меди со свободными ионами фтора на поверхности фторполимерных мембран.

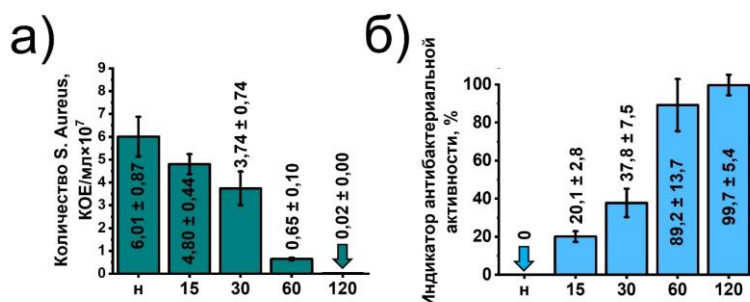


Рисунок 2 – Результаты исследования антибактериальных свойств немодифицированных (н) и модифицированных медью (15, 30, 60, 120) образцов: а) количество выросших бактерий *S. Aureus* после их контакта с модифицированной поверхностью мембран, б) индикатор антибактериальной активности, указывающий на процент подавления численности бактерий

Немодифицированные ВДФ-ТеФЭ образцы не обладают антибактериальными свойствами, о чём свидетельствует индикатор антибактериальной активности, равный нулю (рис. 2б, 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.

Усиление антибактериальной активности при увеличении длительности модифицирования, в первую очередь, связано с увеличением концентрации меди на поверхности мембран.

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*.

На гистологических срезах тканей, взятых на 7-ой день у крыс группы «Без» (дефекты не покрывались мембранами), 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) (рис. 3, слева). На гистологических срезах животных групп «н» (дефекты покрывались немодифицированными мембранами) и «120» (дефекты покрывались модифицированными мембранами) не наблюдается образование некроза, существенно уменьшается площадь лимфогистиоцитарной инфильтрации (1) и площадь грануляционной ткани (2) (рис. 3, слева). На срезах групп «н» и «120» наблюдается активное формирование соединительной ткани (3), происходит процесс ангиогенеза (4), образуются одиночные тромбированные сосуды (5), происходит восстановление эпителиального слоя от периферии раны до её центра (6) и зон паракератоза (7).

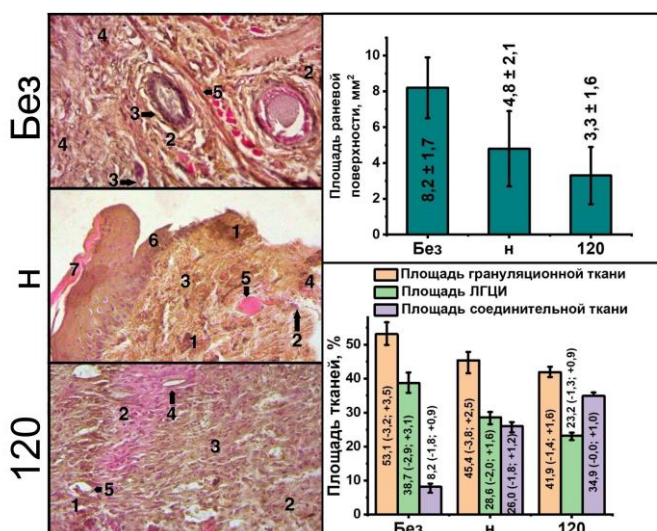


Рисунок 3 – Гистологические срезы тканей (слева), значения площадей раневой поверхности (справа сверху) и площадей отдельных видов тканей (справа снизу) в области дефектов исследуемых групп крыс (Без, н и 120), взятые на седьмой день эксперимента

На 7-ой день эксперимента у групп крыс «Без», «н» и «120» площади раневой поверхности составляют $8,2 \pm 1,7$ мм², $4,8 \pm 2,1$ мм² и $3,3 \pm 1,6$ мм², соответственно (рис. 3, справа 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 (рис. 3, справа сверху).

На 7-ой день у всех групп можно наблюдать формирование соединительной ткани (рис. 3, справа

снизу). Самое большое количество соединительной ткани отмечается у крыс группы «120» – $34,9 (-0,0; +1,0)\%$. У крыс группы «н» количество соединительной ткани оказалось равной $26,0 (-1,8; +1,2)\%$. Наименьшее количество соединительной ткани было замечено у крыс группы «Без» – $8,2 (-1,8; +0,9)\%$ (рис. 3, справа снизу).

Несмотря на то, что медьсодержащие плёнки цитотоксичны и негативно влияют на жизнедеятельность клеток, ВДФ-ТеФЭ мембраны 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, что ограничивает

проникновение патогенов в зону раневого эффекта, снижая вероятность возникновения воспаления.

4. Растворение медного покрытия в слюне обогащает ротовую полость ионами меди, 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.

В четвёртой главе представлены результаты исследований морфологических, физико-химических, структурных и биологических (*in vitro*) свойств ПЛГА скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга и модифицированных титаном методом магнетронного распыления.

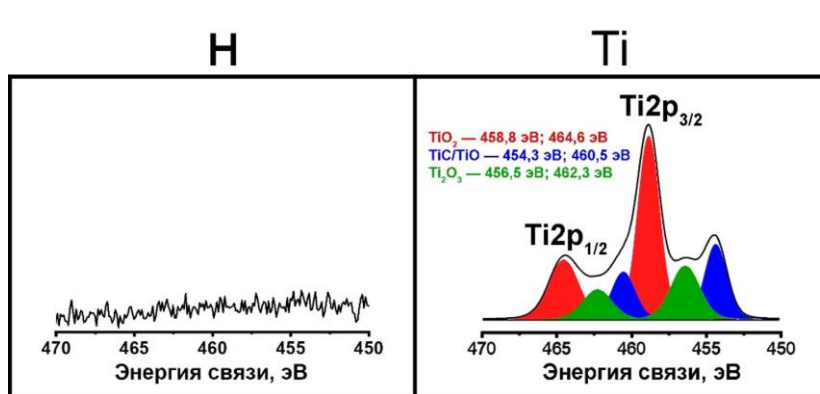


Рисунок 4 – Спектры валентной зоны в области Ti2p немодифицированных (H) и модифицированных (Ti) скаффолдов

На Ti2p спектрах скаффолдов «Ti» присутствуют шесть компонент (рис. 4, Ti). Две высокоинтенсивные красные компоненты с максимумами в точках 458,8 эВ и 464,6 эВ указывают

на формирование соединений TiO_2 . Две синие компоненты с максимумами при значениях 454,3 эВ и 460,5 эВ свидетельствуют о формировании химических связей TiC/TiO. Две зеленые компоненты при значениях 456,5 эВ и 462,3 эВ характеризуют соединения Ti_2O_3 .

Появление различных компонент из оксида титана (TiO , TiO_2 и Ti_2O_3) может быть связано со взаимодействием химически активной модифицированной поверхностью ПЛГА скаффолдов с кислородом, который в малых концентрациях присутствует в камере установки плазменного напыления и в окружающем воздухе. Более того, появление кислородсодержащих титановых компонент указывает на формирование многослойных пленок из оксидов титана на поверхности волокон полимерных скаффолдов.

После 2 секунд и 1 минуты взаимодействия капле воды с поверхностью немодифицированных ПЛГА скаффолдов их краевые углы смачивания оказались равными $116 \pm 3^\circ$ и $118 \pm 3^\circ$, соответственно (рис. 5). Немодифицированные полимерные скаффолды обладают гидрофобными свойствами. После 2 секунд и 1 минуты взаимодействия капле воды с поверхностью модифицированных ПЛГА скаффолдов краевые углы смачивания в обоих случаях снижаются до 0° (рис. 5), что указывает на наличие у них гидрофильных и сорбирующих свойств. Такие свойства, возникающие после модифицирования

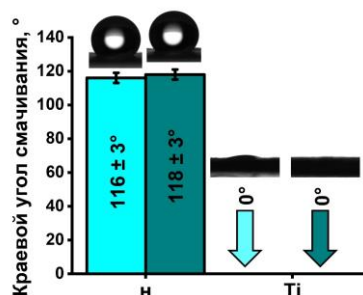


Рисунок 5 – Фотографии капле воды и значения краевых углов смачивания после 2 секунд (отмечены голубым) и 1 минуты (отмечены темно-зелёным) взаимодействия капле воды с поверхностью немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) скаффолдов

поверхности ПЛГА скаффолдов, обусловлены наличием соединений TiO_x . Известно, что тонкие плёнки TiO_x , сформированные методом магнетронного распыления, обладают гидрофильными свойствами. Более того, TiO_2 может приводить к возникновению гидроксильных групп ($-\text{OH}-$), которые способствуют образованию водородных связей между TiO_2 и водой, что в свою очередь, усиливает эффект смачивания.

Как показано на СЭМ микрофотографиях (рис. 6, слева), фибробласты десны человека свободно распространяются по поверхности скаффолдов групп «н» и «Ti».

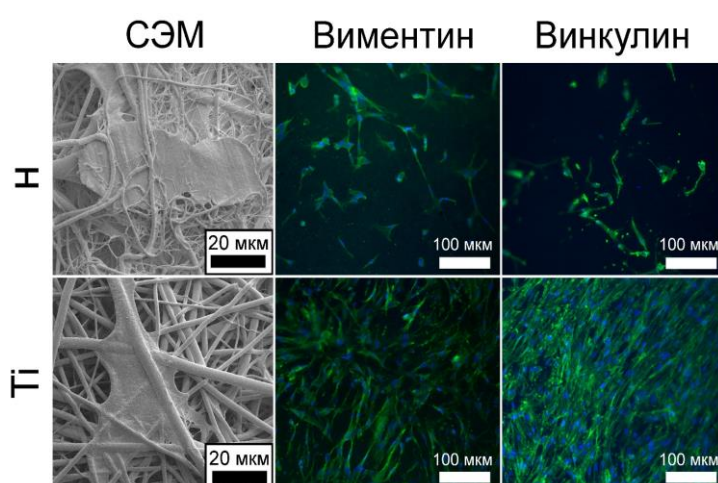


Рисунок 6 – СЭМ микрофотографии фибробластов десны человека (слева) и микрофотографии оптической флуоресценции по виментину (посередине) и по винкулину (справа) на поверхности немодифицированных (н) и модифицированных (Ti) ПЛГА скаффолдов

Модифицирование титаном существенно увеличивает адгезию клеток к полимерным ПЛГА скаффолдам (рис. 6, посередине и справа). Фибробласты, выращенные на поверхности группы «Ti», показали хороший уровень распространения по поверхности, более того, у них активно формировались организованные актиновые нити. Модифицирование

ПЛГА скаффолдов значительно увеличивает численность фибробластов десны человека в ~ 7 раз (с 176 клеток/мм² до 1179 клеток/мм²) (рис. 6, посередине и справа). 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 ПЛГА скаффолдов (рис. 5). Значительное улучшение клеточной адгезии и пролиферации после модифицирования связано с приданием поверхности скаффолдов гидрофильных свойств, что благоприятно влияет на их биосовместимость.

В пятой главе представлены результаты исследований физико-химических, антибактериальных (*in vitro*) и биологических (*in vitro*) свойств ПЛГА скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга и модифицированных медью и титаном методом одновременного магнетронного распыления.

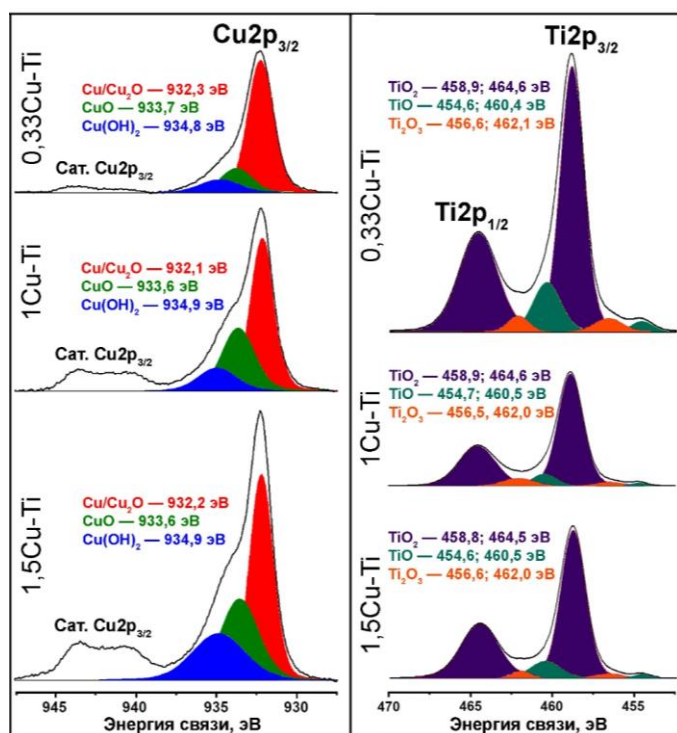


Рисунок 7 – РФЭС спектры валентной зоны в области $\text{Cu}2p_{3/2}$ (слева) и $\text{Ti}2p$ (справа) немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов. Примечание: спектры $\text{Cu}2p_{3/2}$ и $\text{Ti}2p$ для немодифицированных ПЛГА скаффолдов (н) не отображены, так как они не содержат меди и титана.

На $\text{Cu}2p_{3/2}$ спектрах модифицированных ПЛГА скаффолдов (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) наблюдаются высокоинтенсивные пики $\text{Cu}2p_{3/2}$ и широкие низкоинтенсивные сателлитные пики $\text{Cu}2p_{3/2}$ (рис. 7, слева). Деконволюция пиков $\text{Cu}2p_{3/2}$ позволила выделить три соединения, соответствующие различным медьсодержащим химическим связям. Красный, зеленый и синий компоненты на энергиях связи в диапазонах $932,1 \div 932,3$ эВ, $933,6 \div 933,7$ эВ и $934,8 \div 934,9$ эВ относятся к следующим соединениям меди $\text{Cu/Cu}_2\text{O}$, CuO и Cu(OH)_2 , соответственно (рис. 7, слева).

Модифицированные 0,33Cu-Ti и 1,5Cu-Ti скаффолды обладают наименьшей и наибольшей интенсивностью медьсодержащих химических соединений, соответственно (рис. 7, слева).

На $\text{Ti}2p$ спектрах модифицированных скаффолдов можно наблюдать два высокоинтенсивных пика $\text{Ti}2p_{3/2}$ и $\text{Ti}2p_{1/2}$ (рис. 7, справа). В каждом $\text{Ti}2p$ спектре можно выделить по шесть компонент (рис. 7, справа). Фиолетовые компоненты 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 TiO_2 . Зелено-синие компоненты, расположенные в областях энергий связи $454,6 \div 454,7$ эВ и $460,4 \div 460,5$ эВ, свидетельствуют о наличии TiO . Максимумы оранжевых компонент, расположенные в областях энергий $456,5 \div 456,6$ эВ и $462,0 \div 462,1$ эВ, соответствуют Ti_2O_3 . Модифицированные 0,33Cu-Ti образцы имеют наиболее интенсивный $\text{Ti}2p$ рефлекс, а 1Cu-Ti образцы наименее интенсивный (рис. 7, справа).

После модифицирования ПЛГА скаффолдов медью и титаном методом одновременного магнетронного распыления на их поверхности образуются металлсодержащие соединения из меди (Cu), оксидов меди ($\text{CuO}/\text{Cu}_2\text{O}$), 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. Формирование $\text{Cu}(\text{OH})_2$ наиболее вероятно объясняется взаимодействием химически активных компонент меди с водой.

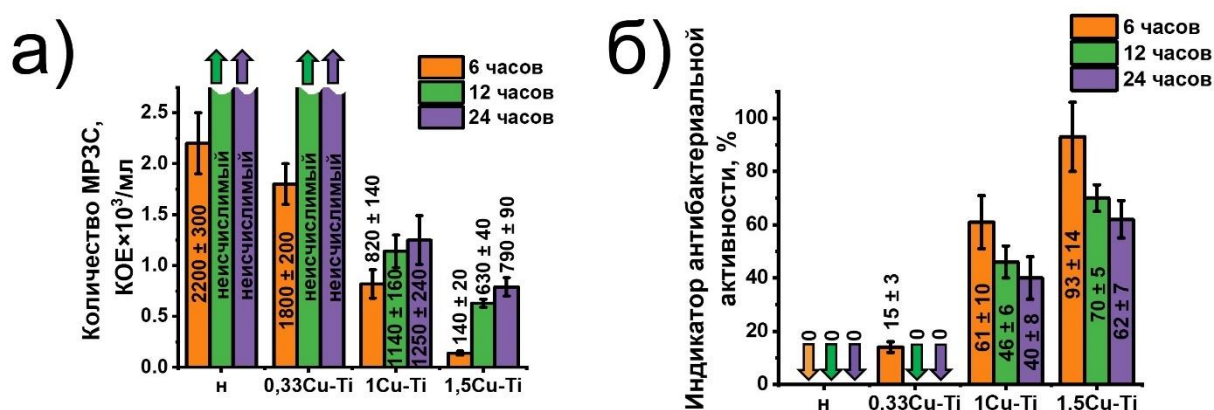


Рисунок 8 – Результаты исследования антибактериальных свойств немодифицированных (н) и модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) скаффолдов: а) количество колоний метициллин-резистентного стафилококка (МРЗС), слово "неисчислимый" указывает на то, что в чашках Петри было так много колоний МРЗС, что их было невозможно сосчитать; б) индикаторы антибактериальной активности, рассчитанные на основе количества колоний МРЗС

Немодифицированные и модифицированные 0,33Cu-Ti образцы не обладают антибактериальными свойствами (рис. 8). 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 (рис. 8). 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 метициллин-резистентного стафилококка (МРЗС) с 140 ± 20 КОЕ/мл до 790 ± 90 КОЕ/мл (рис. 8). 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. Модифицированные 1,5Cu-Ti скаффолды обладают наилучшими антибактериальными свойствами, поскольку у таких образцов наблюдается наибольшая интенсивность медьсодержащих соединений (рис. 7). Антибактериальная активность модифицированных ПЛГА скаффолдов напрямую зависит от концентрации меди: чем выше интенсивность медьсодержащих соединений, тем выше антибактериальные свойства.

Результаты исследования цитотоксичности модифицированных ПЛГА скаффолдов

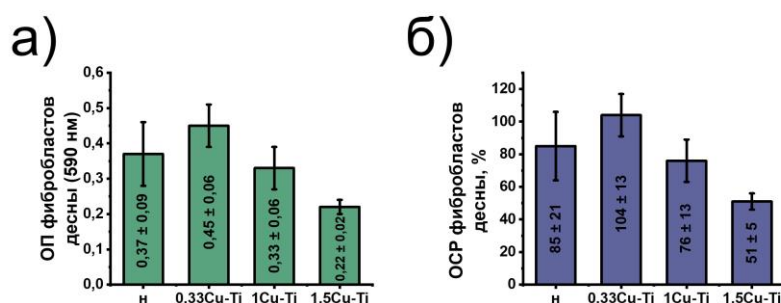


Рисунок 9 – Результаты исследования токсичности немодифицированных (н) и Cu-Ti модифицированных (0,33Cu-Ti, 1Cu-Ti, 1,5Cu-Ti) ПЛГА скаффолдов: а) оптическая плотность (ОП) фибробластов десны человека, инкубированных с ПЛГА образцами в течение 24 часов; б) относительная скорость роста (ОСР) фибробластов десны человека, инкубированных с ПЛГА образцами в течение 24 часов

для фибробластов десны человека показали, что по мере увеличения соотношения Cu/Ti для модифицированных ПЛГА скаффолдов оптическая плотность (ОП) и относительная скорость роста (ОСР) значительно снижаются (рис. 9а и 9б). 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. Образцы 1,5Cu-Ti со значением ОСР $51 \pm 5\%$ являются цитотоксичными по отношению к фибробластам десны человека. Образцы 0,33Cu-Ti и 1Cu-Ti не цитотоксичны для фибробластов десны человека, поскольку имеют значения ОСР $104 \pm 13\%$ и $76 \pm 13\%$, соответственно (рис. 9б). Цитотоксичность образцов усиливается при увеличении интенсивности меди и Cu/Ti соотношения.

В шестой главе представлены результаты работы программы для ЭВМ, предназначенной для моделирования антибактериальных свойств материалов в зависимости от концентрации антибактериального агента.

Методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии было показано, что концентрация меди на модифицированных в течение 30, 60 и 120 секунд ВДФ-ТеФЭ образцов составляет: $5,6 \pm 0,3$ ат. %, $7,6 \pm 0,4$ ат. % и $10,6 \pm 0,5$ ат. %, соответственно. Такие экспериментальные данные концентрации меди ВДФ-ТеФЭ образцов были использованы

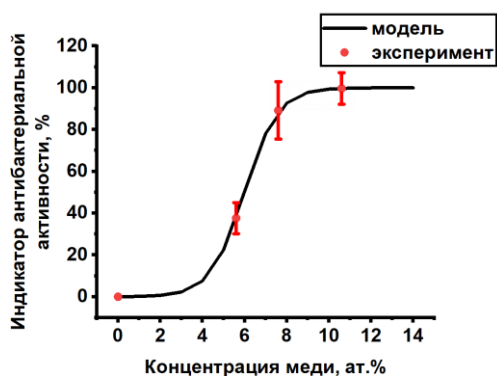


Рисунок 10 – График изменения индикатора антибактериальной активности в зависимости от концентрации меди на модифицированных ВДФ-ТеФЭ мембранах. Экспериментальные данные (эксперимент – красные точки) и аппроксимирующая кривая для них (модель – чёрная линия)

коэффициентов: $a = 1,259$ и $b = 5,986$.

По данным энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии относительная концентрация меди у ПЛГА образцов с наименьшим (0,33Cu-Ti), средним (1Cu-Ti) и наибольшим (1,5Cu-Ti) соотношением, составила $7,8 \pm 1,4$ ат. %, $9,7 \pm 1,3$ ат. % и $10,5 \pm 2,3$ ат. %, соответственно (рис. 11). Наличие и относительное количество меди на образцах оценивали методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

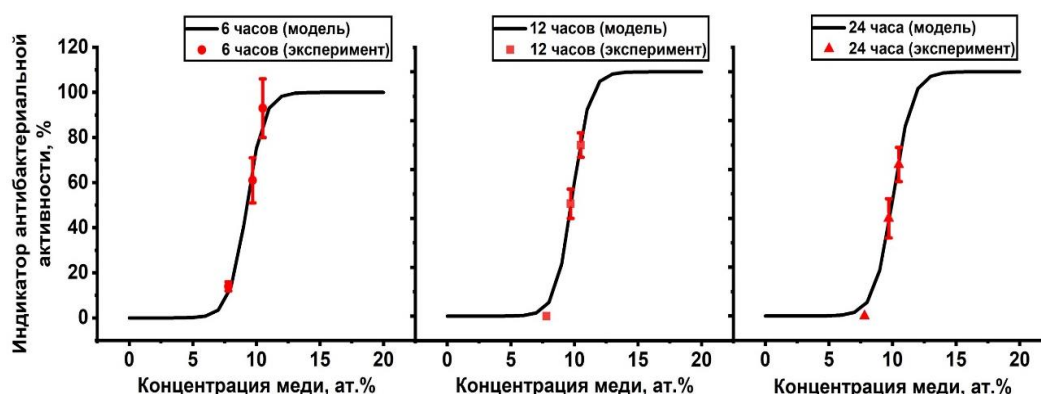


Рисунок 11 – Графики зависимостей индикаторов антибактериальной активности ПЛГА скаффолдов от концентрации меди в них. На графиках представлены экспериментальные данные индикаторов, полученные при инкубировании ПЛГА с МРЗС в течение 6 (слева), 12 (посередине) и 24 часов (справа) (красные точки) и кривые, позволяющие прогнозировать эти данные (чёрные линии)

При различных временах инкубирования МРЗС для сигмоидальной функции (1), прогнозирующую 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 – $a = 1,356$; $b = 10,080$.

в разработанной программе для ЭВМ, в целях построения модельной кривой. На основании модельной кривой (рис. 10) можно сделать вывод, что она коррелирует с экспериментальными данными, полученными при исследовании антибактериальной активности модифицированных медью ВДФ-ТеФЭ мембран (рис. 2). Такая модельная кривая была получена при подборке в аппроксимирующую сигмоидальную функцию 1 следующих калибровочных

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. В то время как заживление дефектов без и с применением немодифицированных мембран 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 (1179 клеток/ мм^2), чем на немодифицированных (176 клеток/ мм^2).

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 – $1\text{Cu}/\text{Ti}$) количество метициллин-резистентного золотистого стафилококка уменьшается на $(40 \div 61) \pm 10\%$, а на скаффолдах с наибольшим соотношением Cu/Ti (группа – $1,5\text{Cu}/\text{Ti}$) уменьшается на $(62 \div 93) \pm 13\%$.

6. Установлено, что у модифицированных ПЛГА скаффолдов с наибольшим соотношением Cu/Ti (1,5) наблюдается наименьшая относительная скорость роста (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 ПЛГА скаффолдов. При этом для ВДФ-ТеФЭ мембран калибровочные коэффициенты составили: $a = 1,259$; $b = 5,986$; а для ПЛГА 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).

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации Scopus/Web of Science.

1. **Badaraev A.D.**, Lerner M.I., Bakina O. V., Sidelev D. V., Tran T.-H., Krinitcyn M.G., Malashicheva A.B., Cherempey E.G., Slepchenko G.B., Kozelskaya A.I., Rutkowski S., Tverdokhlebov S.I. Antibacterial Activity and Cytocompatibility of Electrospun PLGA Scaffolds Surface-Modified by Pulsed DC Magnetron Co-Sputtering of Copper and Titanium // *Pharmaceutics*. – 2023. – Vol. 15, № 3. – P. 939–960.
2. **Badaraev A.D.**, Sidelev D. V., Kozelskaya A.I., Bolbasov E.N., Tran T.-H., Nashchekin A. V., Malashicheva A.B., Rutkowski S., Tverdokhlebov S.I. Surface Modification of Electrospun Bioresorbable and Biostable Scaffolds by Pulsed DC Magnetron Sputtering of Titanium for Gingival Tissue Regeneration // *Polymers*. – 2022. – Vol. 14, № 22. – P. 4922–4940.
3. **Badaraev A.D.**, Tran T.-H., Drozd A.G., Plotnikov E.V., Dubinenko G.E., Kozelskaya A.I., Rutkowski S., Tverdokhlebov S.I. Effect of PLGA Concentration in Electrospinning Solution on Biocompatibility, Morphology and Mechanical Properties of Nonwoven Scaffolds // *Technologies*. – 2023. – Vol. 11., №. 5. – P. 137–158.
4. **Badaraev A.D.**, Konjaeva A., Krikova S.A., Shesterikov E.V., Bolbasov E.N., Nemoykina A.L., Bouznik V.M., Stankevich K.S., Zhukov Y.M., Mishin I.P., Varakuta E.Y., Tverdokhlebov S.I. Piezoelectric polymer membranes with thin antibacterial coating for the regeneration of oral mucosa // *Applied Surface Science* – 2020. – Vol. 504. – P. 144068–144079.
5. **Badaraev A.D.**, Lerner M.I., Sidelev D. V., Bolbasov E.N., Tverdokhlebov S.I. Electrospun VDF-TeFE Scaffolds Modified by Copper and Titanium in Magnetron Plasma and Their Antibacterial Activity against MRSA // *Technologies*. – 2021. – Vol. 9, № 1. – P. 5–13.
6. **Badaraev A.D.**, Nemoykina A.L., Bolbasov E.N., Tverdokhlebov S.I. Magnetron plasma modification by sputtering copper target of electrospun fluoropolymer material to possess bacteriostatic properties // *Materials Today Proceedings* – 2020. – Vol. 22. – P. 219–227.

7. **Badaraev A.D.**, Sidelev D. V, Yurjev Y.N., Bukal V.R., Tverdokhlebov S.I. Modes development of PLGA scaffolds modification by magnetron co-sputtering of Cu and Ti targets // Journal of Physics: Conference Series – 2021. – Vol. 1799, № 1. – P. 012001–012005.

8. **Badaraev A.D.**, Sidelev D. V, Tverdokhlebov S.I. Antibacterial PLGA and PCL membranes, modified by magnetron sputtering method of copper target // IOP Conf. Ser. Material Science Engineering – 2021. – Vol. 1093, № 1. – P. 012004–012008.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК.

9. Коняева, А. Д., Варакута, Е. Ю., Лейман, А. Е., **Бадараев, А. Д.**, Большасов, Е. Н. Эффективность использования нетканых пьезоэлектрических полимерных мембран на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом для закрытия раневых дефектов слизистой оболочки полости рта // Журнал гистологии и гистопатологии – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 40–45.

Прочие публикации.

10. **Badaraev A.D.**, Nemoykina A.L., Bolbasov E.N., Tverdokhlebov S.I. PLLA scaffold modification using magnetron sputtering of the copper target to provide antibacterial properties // Resource-Efficient Technologies – 2017. – Vol. 3, № 2. – P. 204–211.

Методическое пособие.

11. 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 MB). — 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.