

На правах рукописи



Гречишникова (Форысенкова) Анна Александровна

**БИОСОВМЕСТИМЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ
НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТ-ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОН-
ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ**

Специальность – 2.6.14. – Технология силикатных и тугоплавких неметаллических
материалов

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание
ученой степени кандидата технических наук

Москва 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН)

Научный руководитель:

Фадеева Инна Вилоровна

Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории керамических композиционных материалов №20 Института металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН

Официальные оппоненты:

Голованова Ольга Александровна

Доктор геолого-минералогических наук, профессор кафедры неорганической химии Омского государственного университета им Ф.М. Достоевского

Лукина Юлия Сергеевна

Кандидат технических наук, доцент, заведующий лабораторией разработки и испытания медицинских изделий и материалов Национального медицинского исследовательского центра травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Защита Диссертации состоится «15» октября 2026 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.078.04 в ИМЕТ РАН по адресу: 119334, г. Москва, Ленинский проспект, 49.

С Диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИМЕТ РАН, а также на официальном сайте ИМЕТ РАН <http://www.imet.ac.ru>. Автореферат диссертации размещен на официальных сайтах ИМЕТ РАН <http://www.imet.ac.ru> и ВАК <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета 24.1.078.04,
кандидат геолого-минералогических наук



Ивичева С.Н.

Актуальность работы

С развитием принципов регенеративной медицины в ортопедии, травматологии и челюстно-лицевой хирургии наблюдается растущий спрос на имплантационные материалы, способные не только замещать дефекты костной ткани, но и активно стимулировать её регенерацию. Такие материалы должны обладать комплексом физико-химических и биологических свойств: высокой пористостью для обеспечения инфильтрации клеток и ангиогенеза, вязкоупругими характеристиками, позволяющими адаптироваться к анатомически сложным дефектам, а также остеокондуктивной и остеоиндуктивной активностью, направленной на стимуляцию дифференцировки остеопрогениторов и формирование новой костной матрицы.

Наиболее перспективными среди современных решений являются композиционные материалы на основе резорбируемых биополимеров с фосфатами кальция (ФК), чей состав приближен к естественной костной ткани. В клинической практике широко применяются коллагеновые мембраны и пористые филлеры, демонстрирующие хорошую биосовместимость и способность к интеграции с тканями. Однако коллаген, несмотря на свою структурную релевантность, обладает ограниченной остеоиндуцирующей активностью. Для компенсации этого недостатка в него вводят экзогенные факторы роста, что значительно усложняет технологический процесс, повышает стоимость производства и вводит дополнительные риски, связанные со стабильностью и контролируемым высвобождением биомолекул.

В этом контексте перспективную альтернативу представляет альтернативная платформа на основе природного полимера альгината (Алг) и синтетического полимера поливинилпирролидона (ПВП). Альгинат обладает высокой биосовместимостью, биоразлагаемостью, гемостатическими свойствами и способностью образовывать прочные гидрогели при ионном сшивании (например, Ca^{2+}), что обеспечивает стабильную трёхмерную архитектуру скэффолда. Введение ПВП позволяет модулировать механические свойства материала – снижать жёсткость гидрогеля, сохраняя при этом его высокую гидрофильность. Это критически важно для предотвращения формирования фиброзной капсулы, которая препятствует интеграции импланта и нарушает микроокружение, необходимое для остеогенеза. Благодаря растительной (Алг) и синтетической (ПВП) природе компонентов, материалы на их основе не проявляют иммуногенности, что делает их безопасными для длительного имплантационного применения.

Остеокондуктивность и остеоиндуктивность композитов обеспечивают фосфаты кальция. Среди них карбонатгидроксиапатит (КГА) выделяется как оптимальный кандидат: его химический состав ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2\text{CO}_3$) максимально приближен к природному костному апатиту, что обеспечивает лучшую остеоинтеграцию. В отличие от чистого гидроксиапатита (ГА), КГА обладает повышенной растворимостью в кислой среде, создаваемой остеокластами, что способствует его контролируемой биорезорбции и одновременному высвобождению ионов Ca^{2+} и CO_3^{2-} , стимулирующих остеобластическую активность.

С этих позиций настоящее исследование, посвященное разработке композиционных материалов на основе альгинат–поливинилпирролидон–карбонатгидроксиапатит, обладающих вышеуказанными свойствами, является актуальным: направлено на создание биосовместимых композиционных мембран и пористых трёхмерных скэффолдов для направленной регенерации костной ткани в стоматологической и ортопедической практике.

Таким образом, **целью** работы являлась разработка композиционных материалов на основе поливинилпирролидон–альгинат натрия (в соотношениях 1:1, 2:1, 1:2) с карбонатгидроксиапатитом (5–50 мас.%) – для применения в медицине. Для достижения цели были решены следующие **задачи**:

1. Получение порошка карбонатгидроксиапатита осаждением из водных растворов; приготовление полимерных растворов альгината и поливинилпирролидона, как отдельно, так и их смесей с соотношением 1:1, 1:2, 2:1; приготовление композиционных суспензий с наполнителем карбонатгидроксиапатитом в количестве 5, 10, 20, 30, 40 и 50 мас.% от массы полимеров; получение пленок и объемных пористых материалов;
2. Исследование фазового и химического состава компонентов и самих композиционных материалов; изучение влияния состава полимерных композиционных суспензий на их кажущуюся вязкость;
3. Исследование механизмов сшивания альгината ионами Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} , и Mn^{2+} ; изучение прочности и термической стабильности сшитых материалов альгинат, поливинилпирролидон–альгинат и поливинилпирролидон–альгинат–карбонатгидроксиапатит;
4. Изучение влияния компонентного состава (содержание поливинилпирролидона и карбонатгидроксиапатита) и сшивания ионами Ca^{2+} на микроструктуру, пористость, поведение при растяжении и сжатии, набухание и растворение в водной среде пленочных и объемных материалов;
5. Оценка биологических свойств материалов поливинилпирролидон–альгинат, в том числе сшитых ионами Ca^{2+} , и композитов поливинилпирролидон–альгинат–карбонатгидроксиапатит *in vitro* и *in vivo*.

Научная новизна результатов работы заключается в следующем:

Установлена закономерность влияния

1. Установлена количественная нелинейная зависимость реологических параметров композитных суспензий альгинат-поливинилпирролидон-карбонатгидроксиапатит от массовой доли неорганического наполнителя: с ростом содержания карбонатгидроксиапатита от 10 до 30 мас. % кажущаяся вязкость снижается от 1271 до 756 мПа·с, дальнейшее повышение содержания карбонатгидроксиапатита до 50 мас.% вызывает обратное увеличение вязкости до 1267 мПа·с (скорость сдвига 13 c^{-1}). На основании полученных реологических данных определены параметры, обеспечивающие формирование пористых матриц с заданной структурой: объемная пористость 85 об.% и средний размер пор 320 мкм при содержании карбонатгидроксиапатита 10 мас.%, пористость 71 об.% и средний размер пор 170 мкм при 30 мас.% карбонатгидроксиапатита и 84 об.% и 300 мкм – при 50 мас.% карбонатгидроксиапатита.
2. Раскрыты механизмы сшивания альгината ионами двухвалентных металлов (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}) методами ЯМР- и ЭПР-спектроскопии: ионы Ca^{2+} координируются к COO^- -группам с образованием разреженных сшивков (модуль упругости сшитых пленок 1.2 ГПа), Sr^{2+} – к COO^- и OH^- -группам с более плотной сеткой (модуль упругости 1.7 ГПа); ионы Cu^{2+} формируют прочные сшивки с близким расположением ионов (модуль упругости 4.2 ГПа), Mn^{2+} – слабые сшивки с большим межионным расстоянием (модуль упругости 0.5 ГПа). Сшивание Ca^{2+} повышает термостойкость (начало разложения $+20 \text{ }^\circ\text{C}$), Cu^{2+} – ускоряет деструкцию (60% потери массы при $200 \text{ }^\circ\text{C}$), сшивание ионами Mn^{2+} – оказывает незначительное влияние на термическую стабильность композиционных пленок.

3. Установлено влияние содержания поливинилпирролидона на механические свойства композитов: введение поливинилпирролидон в соотношении 1:1 с альгинатом задает пластический характер деформации пленок – модуль упругости снижается в 2 раза, разрывное удлинение увеличивается в 1.3 раза. Присутствие ПВП в составе пленок, сшитых ионами Cu^{2+} , снижает модуль упругости в 8 раз и прочность в 1.6 раза, но увеличивает удлинение в 1.3 раза. В пленках, сшитых ионами Ca^{2+} , поливинилпирролидон снижает модуль упругости в 3 раза и прочность в 6 раз, но увеличивает удлинение в 2 раза. Выявлено, что введение 5 мас.% карбонатгидроксиапатит в состав смесевой пленки повышает модуль упругости в 1.7 раза и прочность в 1.6 раза, что подтверждается данными ЯМР- и ЭПР-спектроскопии о физическом взаимодействии матрицы и наполнителя.
4. В экспериментах *in vivo* на модели подкожной имплантации мышам выявлены закономерности биодеградации и регенеративного потенциала композитных пленок от их состава: пленки поливинилпирролидон-альгинат полностью деградируют за 7 сут, пленки поливинилпирролидон-альгинат-карбонатгидроксиапатит (5 мас.%) – за аналогичный срок, с сохранением частиц карбонатгидроксиапатит, окруженных здоровой грануляционной тканью; пленки поливинилпирролидон-альгинат, сшитые ионами Ca^{2+} , сохраняют целостность в течении 7 сут. Все материалы демонстрируют биосовместимость, стимулируют экспрессию генов, направленных на регенерацию тканей, и не вызывают образования фиброзной ткани.

Практическая значимость работы

1. Полученные данные о взаимосвязи вязкости исходных суспензий, пористости и размера пор композитов на основе альгината, поливинилпирролидона и карбонатгидроксиапатита, а также вида сшивающего иона позволят получать материалы с микроструктурой и механическими характеристиками, необходимыми для медицинского применения: прочность при растяжении композиционных пленок, сшитых ионами Ca^{2+} и Cu^{2+} на уровне 41–42 МПа, пористость объемных материалов на уровне 70–85 об.%, при содержании карбонатгидроксиапатита от 10–50 мас. %.
2. Разработаны композиционные пленочные и объемные пористые материалы, биологические испытания *in vitro* которых показали их высокую биосовместимость, а в испытаниях *in vivo* продемонстрирована высокая эффективность пленок на основе поливинилпирролидона–альгината в регенерации тканей.
3. Получен патент RU 2854380 «Способ получения высокопористых композиционных материалов на основе биополимеров с фосфатами кальция для медицины», заявка: 2024113819, 22.05.2024.

Диссертационная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ по теме «Пористые композиционные материалы на основе биорезорбируемых биосовместимых полимеров медицинского назначения, содержащих фосфаты кальция, для регенеративной медицины» (№ 22-23-00278), а также грантом «УМНИК» по теме «Разработка биодеградируемого минерал-полимерного материала для восстановления костной ткани».

На защиту выносятся следующие **положения**:

1. Разработанный метод получения пленочных и объемных пористых композитов альгинат-поливинилпирролидон-карбонатгидроксиапатит, включающий гомогенизацию суспензий, формование и сшивание ионами металлов.
2. Влияние состава и сшивающего иона на структуру, физико-механические свойства и термическую стабильность композиционных пленок альгинат-поливинилпирролидон-карбонатгидроксиапатит.

3. Влияние состава на характеристики пористости и прочности объемных пористых композитов альгинат-поливинилпирролидон-карбонатгидроксиапатит.
4. Биосовместимость *in vitro* и биологические свойства *in vivo* композитов альгинат-поливинилпирролидон-карбонатгидроксиапатит.

Личный вклад автора в настоящую работу заключается в разработке плана исследований, проведении экспериментов, обработке и анализе полученных результатов, написании статей.

Апробация работы и публикации

Апробация работы и публикации Основные результаты работы изложены в 17 публикациях, включая 7 статей в периодических журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК и индексируемых в Scopus и Web of Science. Результаты, входящие в работу, представлены на 10 конференциях в виде устных и стендовых докладов, в том числе Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов» (с международным участием), Москва, ИМЕТ РАН 2021, 2022, 2023, 2024 г.; Конференция молодых ученых по общей и неорганической химии, Москва, ИОНХ РАН 2021, 2023 г.; Всероссийская конференция молодых ученых-химиков, Нижний Новгород, 2023 г.; Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022» и «Ломоносов-2024», Москва, МГУ, 2024; Девятая Всероссийская Каргинская Конференция «Полимеры–2024», Москва, МГУ, 2024; получен патент RU 2854380, заявка 2024113919; 22.05.2024.

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием взаимодополняющих методов физико-химического анализа и воспроизводимостью экспериментальных данных, а также их согласованностью с литературными данными.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ по теме «Пористые композиционные материалы на основе биорезорбируемых биосовместимых полимеров медицинского назначения, содержащих фосфаты кальция, для регенеративной медицины» (№ 22-23-00278), а также грантом «УМНИК» по теме «Разработка биodeградируемого минерал-полимерного материала для восстановления костной ткани».

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, шести глав, включая аналитический обзор литературы, экспериментальную часть, результаты и обсуждения, а также выводов. Представлена на 116 страницах машинописного текста, иллюстрирована 38 рисунками и 12 таблицами. Список цитируемой литературы содержит 201 наименование.

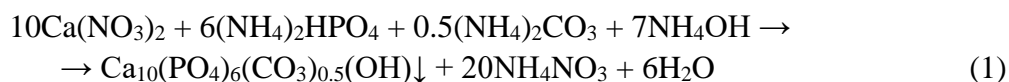
СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость результатов работы, обозначены основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена анализу литературы по теме исследования, в котором раскрывается современное состояние исследований в области композиционных минерал-полимерных материалов для медицинских применений, описаны свойства биосовместимых полимеров, способы получения различных материалов на их основе, описаны структуры ГА и КГА, обсуждается перспективность выбора ПВП и Алг в качестве полимерной матрицы для создания композиционных материалов для медицины.

Во второй главе приведен перечень исходных материалов, использованных в работе, методика синтеза КГА и способы получения композиционных материалов, а также методы и подходы, использованные для решения поставленных задач.

КГА получен осаждением из растворов с учетом схемы реакции (1):



Уровень pH=9 поддерживали добавлением водного 25%-го раствора аммиака. Продукт реакции оставляли стареть в течение суток, затем отфильтровывали от маточного раствора и сушили при 110 °С, измельчали и прокаливали полученный порошок при 900 °С для получения кристаллической фазы апатита.

Для получения полимерных и композиционных материалов использовали ПВП (360 кДа, Sigma-Aldrich) и альгинат натрия (Алг) (Химмед, фармацевтический).

Растворы Алг, ПВП, ПА, ПА1, ПА2 с общей концентрацией полимера 2.5 мас.% получены растворением сухих полимеров в воде при постоянном перемешивании до однородности. На основе раствора ПА получены композиционные суспензии ПАК-5, ПАК-10, ПАК-20, ПАК-30, ПАК-40, ПАК-50 с содержанием КГА 5–50 мас.%. Часть этих суспензий была использована для исследования вязкости.

Пленочные образцы на основе Алг, ПА, ПА1, ПА2, ПАК-5 и ПАК-10 были получены из растворов и суспензий литьем на полипропиленовые подложки размером 5x10 см с последующей сушкой на воздухе. Толщина сухих пленок составляла 150±10 мкм. Содержание КГА свыше 10 мас.% приводило к получению толстых, хрупких пленок с крупными включениями КГА, что делало их непригодными для дальнейших исследований. Полученные пленки Алг и пленки ПА 1:1 подвергались ионному сшиванию путем выдерживания образцов размером 5x5 см в 50 мл растворов CaCl₂, BaCl₂, Sr(NO₃)₂, Cu(NO₃)₂ и Mn(CH₃COO)₂, с концентрацией сшивающего иона (Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺, Cu²⁺, и Mn²⁺, соответственно) 0.5М в течение 5 мин. В дальнейшем исследовали прочность при растяжении и термическую стабильность сшитых пленок.

Объемные пористые образцы составов Алг, ПА, ПАК-10, ПАК-20, ПАК-30, ПАК-40, ПАК-50 получали вспениванием растворов и суспензий со скоростью 3000 об/мин, заливкой в полистироловые цилиндрические формы, последующей заморозкой при -10 и -50 °С и лиофильной сушкой. После сушки образцы сшивали в 0.5 М растворе CaCl₂, затем повторно замораживали и лиофилизировали.

Фазовый и химический состав материалов исследовали методами рентгенофазового анализа (РФА) (дифрактометр Rigaku SmartLab SE (Rigaku, США)) и ИК-спектроскопии (Фурье-спектрометр Vertex 70V (Bruker, США)).

Взаимодействие неорганического наполнителя с полимерной матрицей исследовали методами твердотельного ¹H ЯМР- и ЭПР-спектроскопии. Объектами исследований были выбраны порошки ПВП и композита ПВП-ГА с некарбонизированным гидроксиапатитом (ГА), поскольку ГА и ПВП хорошо охарактеризованы методом ЯМР, их сигналы легко идентифицируемы; в ЭПР-исследовании регистрировали сигнал от радикала NO₃²⁻ в составе ГА (синтезированном по реакции 1), оставшегося после синтеза. Его анизотропный сигнал не перекрывает область 340–350 мТл, где CO₃²⁻ радикал создает сильный фон, маскирующий слабые сигналы от радикалов третичного амина ПВП.

Твердотельные ¹H ЯМР-спектры регистрировали на ЯМР-спектрометре AVANCE400WB (Bruker, Германия) с сенсором MAS 4BL CP BB DVT. Образцы порошка были плотно упакованы в 4-миллиметровый ротор из оксида циркония и раскручивались до частоты вращения 7 кГц. Измерения проводились при температуре 295 К. Химические явления, связанные с сигналами ЯМР, были откалиброваны путем измерения сигнала воды (δ = 4,67 ppm).

Измерения ЭПР (спектрометр Elexsys E680 (Bruker, Германия) проводили при 73,15 °С в двух СВЧ-диапазонах: X-диапазоне (с СВЧ-частотой νМВТ = 9 ГГц) и W-

диапазоне ($\nu\text{МВТ} = 94 \text{ ГГц}$) в импульсном режиме. Спектры ЭПР регистрировали детектированием интегральной интенсивности электронно-спинового эха (ЭСЭ) в зависимости от величины магнитного поля B_0 . Выбор W-диапазона обоснован необходимостью достижения более высокого спектроскопического разрешения, позволяющего идентифицировать отчетливые сигналы ЭПР с близкими g-факторами, и высокой чувствительности (для регистрации слабых сигналов ЭПР). Стабильные парамагнитные центры формировали рентгеновским облучением образцов расчетной дозой 5кГр.

Механизмы сшивания Алг ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} исследовали с помощью жидкостной ЯМР-спектроскопии (ЯМР-спектрометр Inova 500 (Varian, США)) на примере раствора Алг: для этого отдельно готовили 1 мас.% раствор Алг в дейтериевой воде (D_2O) и добавляли растворы CaCl_2 и $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ в D_2O . При этом концентрации по сшивающему иону (Ca^{2+} и Sr^{2+}) в конечном растворе Алг составляли 0,3, 1, 2,5, 5,5 и 25 ммоль/г. Исследование методом ЯМР-спектроскопии было осложнено повышенной вязкостью раствора, тем более возрастающей в результате реакции сшивания. Кроме того, на ЯМР-спектре наблюдали интенсивный пик от ядер водорода H_2O ввиду гигроскопичности порошка Алг. В этой связи для качественной оценки вклада в спектр ядер водорода был применен фиттинг при обработке спектров в программе MestReNova.

Для сравнения механизмов сшивания Алг ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} с сшиванием ионами Cu^{2+} и Mn^{2+} проводили исследование методом ЭПР-спектроскопии ввиду того, что ионы Cu^{2+} и Mn^{2+} являются парамагнитными. Регистрировали спектры Cu^{2+} и Mn^{2+} в составе сшитой Алг пленки после ее погружения в растворы $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ и $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Количества ионов на 1 г Алг для Cu^{2+} составило 0,2, 0,3, 0,4, 0,6, 0,75, 0,9, 1,0, 1,2, 1,1 ммоль/г и для Mn^{2+} – 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 ммоль/г.

Кинематическую вязкость полимерных растворов и композиционных суспензий измеряли с помощью набора капиллярных вискозиметров типа ВПЖ. Динамическая вязкость была измерена на реометре RheolabQC (Anton Paar, Австрия) с использованием измерительной системы (цилиндрическая чашка и шпindel) CC39/T200/XL/SS в диапазоне скоростей сдвига от 13 до 1290 c^{-1} при температуре 20 °С. Температуру контролировали ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) с помощью термостатической проточной ячейки C-LTD80/QC. Калибровку прибора проводили по стандарту ГСО РЭВ-1000-ЭК (ООО «Экрос», Россия).

Микроструктуру полимерных и композиционных материалов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (электронный микроскоп Tescan Vega II («Tescan», Чехия). Степень набухания пленок в соответствии с ГОСТ 4650-2014 измеряли следующим образом: пленки (размер 5x10 см) погружали в 50 мл дистиллированной воды с температурой 25 °С на 1, 3, 5, 10, 15, 30 и 60 мин, взвешивали набухшую пленку и рассчитывали степень набухания по формуле (2):

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где α – степень набухания, m – масса сухой пленки, m_0 – масса набухшей пленки.

Исследование образцов методом ТГА проводили на приборе TG50 (Mettler Toledo, США) с микровесами МЗ в токе воздуха (скорость потока 200 мл/мин) в динамическом режиме со скоростью 20 °С/мин в диапазоне от 30 до 700 °С. Для этого из исследуемых пленок вырубали образцы диаметром 6,5 мм, которые помещали в один слой в фарфоровый тигель.

Испытания сухих и влажных пленок на растяжение (в соответствии с ГОСТ 34370–2017) и объемных пористых образцов на сжатие (в соответствии с ГОСТ 4651-2014 (ISO 604:2002)) проводили на универсальной разрывной машине Instron 1196 (Instron Ltd.,

Великобритания). Влажность пленок для испытаний на растяжение достигали сбрызгиванием пленок дистиллированной водой до их равномерного размягчения и содержания влаги на уровне 37–38%. Из полученных при испытаниях кривых были найдены показатели прочности (предельное напряжение, модуль упругости). Для объемных пористых образцов исследована деформируемость при сжатии. Абсолютную $\varepsilon_{\text{абс}}^{\text{обр}}$ и $\varepsilon_{\text{ист}}^{\text{обр}}$ истинную обратимую деформацию рассчитывали по формулам (3) и (4):

$$\varepsilon_{\text{абс}} = \frac{l_{\text{кон}} - l_{\text{деф}}}{l_0 - l_{\text{деф}}} \cdot 100\%, \quad (3)$$

$$\varepsilon_{\text{ист}} = \left(\frac{l_{\text{кон}} - l_{\text{деф}}}{l_0 - l_{\text{деф}}} \right) \cdot 100\%, \quad (4)$$

где l_0 – начальная высота образца, $l_{\text{деф}}$ – высота образца после сжатия, $l_{\text{кон}}$ – высота образца, восстановленная после сжатия.

Пористость объемных пористых образцов измеряли гидростатическим взвешиванием.

Растворимость композитов оценивали по потере массы при нахождении в воде в течение 40 дней.

Биосовместимость композиционных материалов оценивали *in vitro* с помощью МТТ-теста и методом прямого контакта. Биодegradацию и влияние композиционных материалов на восстановление поврежденных тканей слепой кишки и брюшной стенки изучали *in vivo* на мышинной модели брюшной спайки.

В **третьей главе** представлены результаты исследования фазового и химического состава наполнителя КГА и содержащих его композиционных материалов, их влияния на вязкость композиционных суспензий, а также механизмы сшивания Алг ионами Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} и Mn^{2+} .

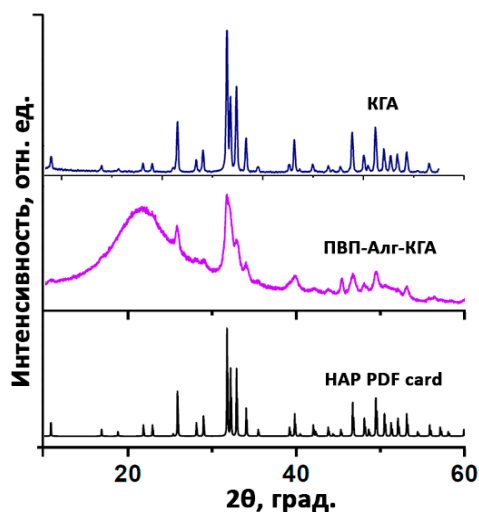


Рисунок 1. Дифрактограммы КГА после 900°С и композита ПАК-5

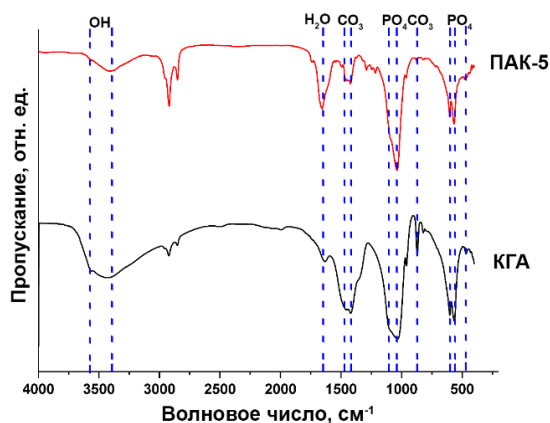


Рисунок 2. ИК-спектры КГА после термообработки при 900°С и композита ПАК-5.

Фазовый и химический состав. Согласно данным РФА, продукт синтеза КГА, порошок с размером частиц 10–50 нм, $S_{\text{уд}} = 44 \pm 1,0 \text{ м}^2/\text{г}$ после термообработки при 900 °С представлен хорошо закристаллизованной апатитовой фазой без примесей (рис. 1). На дифрактограмме композита ПАК-5 присутствие полимеров ПВП и Алг приводит к появлению широких полос при 21.1 2θ° и 13.73 и 21.71 2θ°, соответственно.

ИК-спектр КГА (рис. 2) демонстрирует полосы, относящиеся к колебаниям фосфатных групп в апатитовой структуре ($565, 603, 1103, 963 \text{ см}^{-1}$), гидроксо-групп ($630, 3562, 3399 \text{ см}^{-1}$) и карбонат-групп ($873, 1418, 1458, \text{ см}^{-1}$). В спектре композита присутствуют полосы, относящиеся к функциональным группам полимеров: карбоксильные и гидроксильные группы гулуруновой (G-блок) и маннуруновой (M-блок) кислот в составе Алг (рис. 3а), третичный амин и карбонильная группа в составе ПВП (рис. 3б), 1411 см^{-1} – C–O связь в карбоксильных группах G- и M-блоков Алг (рис.3а) и $1449, 1338 \text{ см}^{-1}$ C–N связи и 872 см^{-1} – C–H₂ связи в ПВП (рис.3б), которые накладываются на полосы фосфатных и карбонатных групп, увеличивая их интенсивность.

Для характеристики взаимодействий матрица–наполнитель были применены твердотельные ЯМР- и ЭПР-спектральные методы.

В ходе ЯМР-исследования были получены ¹H ЯМР-спектры ПВП и композита ПВП-ГА в твердом теле (рис. 4), а также данные о времени спин-решеточной и спин-спиновой релаксации (табл. 1).

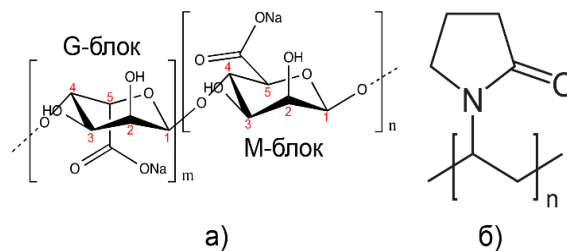


Рисунок 3. Структурная формула альгината (а) и ПВП (б).

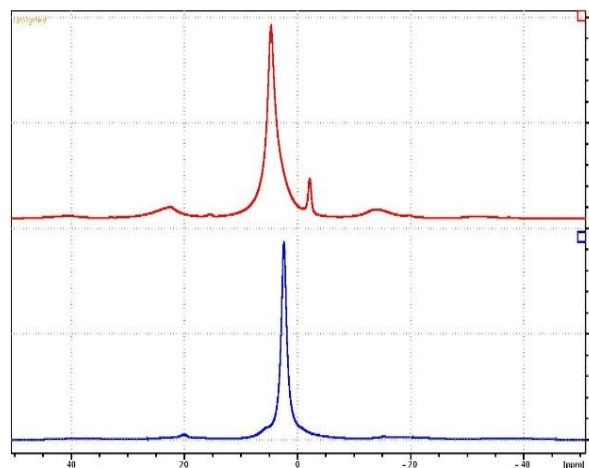


Рисунок 4. ¹H ЯМР-спектры ПВП (синяя линия) и ПВП-ГА (красная линия) в твердом теле.

Таблица 1. Значения времени спин-решеточной релаксации для ПВП и ПВП-ГА, с⁻¹

Образец	Хим. сдвиг		
	2.4 ppm	4.7 ppm	-2.15 ppm
ПВП	0.67±0.02	-	-
ПВП-ГА	-	0.49±0.02	0.55±0.02

В спектре ПВП два сигнала: основной, при 2–3 ppm, относящийся к ядрам водорода групп –CH₂, и сигнал низкой интенсивности при 1–2 ppm, – ядер водорода концевых –CH₃ групп (рис. 4, синий спектр). В спектре композита ПВП-ГА сигнал ¹H ЯМР при 4,7 ppm связан с адсорбированной водой, в то время как сигнал при –2,15 ppm связан с гидроксо-группами, присутствующими в структуре ГА (рис. 4, красный спектр). Форма сигнала ЯМР при 4,7 ppm асимметрична из-за наложения протонных сигналов воды и полимера. Отсутствие изменений химических сдвигов в спектре ПВП-ГА говорит о том, что между полимером и наполнителем нет химических взаимодействий. Однако полученные данные спин-решеточной и спин-спиновой

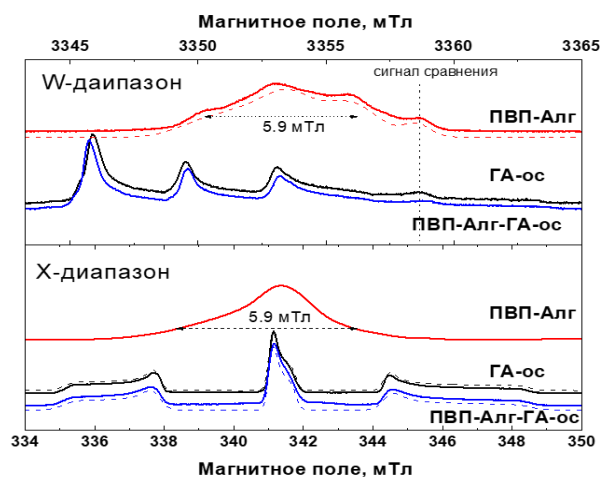


Рисунок 5. Спектры ЭПР, полученные с помощью детектирования образцов ГА ос, ПВП-Алг и ПВП-Алг-ГА, подвергнутых рентгеновскому облучению. Вверху - W-диапазон, внизу - X-диапазон. Красными линиями показаны спектры ПВП-Алг, черными - ГА, синими - ПВП-Алг-ГА. Пунктирной линией показан сигнал кварцевого держателя образца.

релаксации (табл. 1) свидетельствуют о том, что из-за присутствия ГА изменилась подвижность полимерной цепи ПВП, возможно, из-за адсорбции полимера на частицах ГА.

В ЭПР-спектральном исследовании регистрировали сигналы (рис. 5) от третичного амина в составе ПВП (рис. 3б) и нитрат-иона в составе ГА, оставшегося после синтеза растворным методом (реакция 1), после рентгеновского облучения. В спектре полимерной матрицы наблюдается сигнал радикала третичного амина в составе ПВП. Спектр композита регистрируется благодаря перекрытию сигналов нитрат-иона и радикала третичного амина в структуре ПВП (рис. 3а), что возможно лишь при наличии связи между полимером и частицами ГА. Таким образом, ЯМР- и ЭПР-спектральные исследования показали: формирование композита происходит за счёт физического взаимодействия полимерной матрицы и наполнителя без образования сильных химических связей, что обеспечивает механическую прочность, как будет показано далее, контролируемую деградацию и биоактивность, необходимых для эффективной направленной регенерации костной ткани.

Вязкость суспензий является ключевым параметром для процесса получения объемных пористых композиционных материалов на основе растворов полимеров. Для качественной оценки влияния дисперсной фазы ФК (на примере КГА) на вязкость были проведены *исследования кинематической вязкости* растворов ПВП, Алг, ПА и суспензий ПАК-10, ПАК-20, ПАК-30, ПАК-40 и ПАК-50. Растворы Алг и ПВП демонстрируют различное поведение вследствие разной природы. Кинематическая вязкость раствора Алг экспоненциально возрастает при изменении концентраций от 1 до 2.5 мас.% (рис. 6а, синяя кривая); при концентрации раствора Алг выше 2.5 мас.% измерение кинематической вязкости невозможно из-за возрастающего электростатического набухания. Зависимость вязкости раствора ПВП от концентрации носит линейный характер и меняется незначительно от 3 до 50 м²/с с ростом концентрации ПВП от 1 до 8 мас.% (рис. 6а, фиолетовая кривая). Кривая вязкости смесового раствора ПА 1:1 при разных концентрациях имеет промежуточные значения (1390 м²/с при концентрации 2.5 мас.%), что указывает на вклад обоих полимеров в зависимость вязкости от концентрации (рис. 6а, голубая кривая). Для дальнейших исследований вязкости в динамическом режиме был выбран раствор ПА с общей концентрацией 2,5 мас.%, имеющий оптимальную вязкость, позволяющую проводить измерения вязкости, но не такую низкую, как у чистого ПВП.

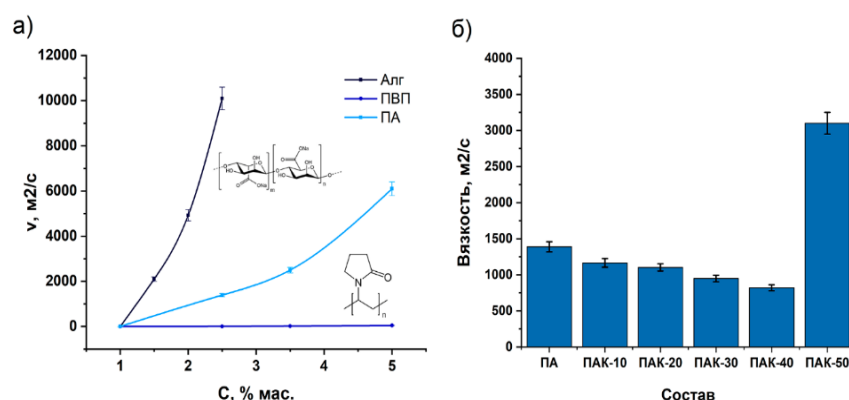


Рисунок 6. Зависимость кинематической вязкости полимерных растворов от концентрации полимеров (а); композиционных суспензий от состава (б) при ПВП:Алг 1:1 и их общей концентрации 2,5 мас. %.

При добавлении наполнителя КГА в количестве 10–40 мас.% наблюдается монотонное снижение кинематической вязкости, обусловленное, вероятно, снятием электростатического отталкивания молекул Алг при взаимодействии с частицами КГА. При введении КГА в количестве 50 мас.% кинематическая вязкость возрастает (рис. 6б): по-видимому, избыток частиц усиливает гидродинамическое трение, преобладающее над эффектом нейтрализации отталкивания.

Результаты измерения кажущейся вязкости (рис. 7) подтвердили ньютоновское поведение раствора ПВП: вязкость, и напряжение сдвига линейно зависят от скорости сдвига (рис. 7а), что согласуется с данными измерения кинематической вязкости (рис. 2а). Раствор Алг проявляет псевдопластичность с высокой начальной вязкостью (6850 МПа·с) (рис. 7а); при увеличении скорости сдвига вязкость снижалась, однако предельные показатели скорости сдвига оставались ниже по сравнению с ПВП (рис. 7а). При скорости сдвига 774 с^{-1} напряжение составило 434 Па (рис. 7б). Для смешанного раствора ПА сохранен псевдопластический характер (рис. 7а), однако начальная вязкость значительно ниже (1275 МПа·с) (рис. 7а). Максимальные значения напряжения для ПА (15.9 Па) лежат между таковыми для раствора Алг (87.05 Па) и ПВП (0.57 Па) (рис. 7б), что подтверждает вклад обоих полимеров, аналогично результатам измерения кинематической вязкости (рис. 6а).

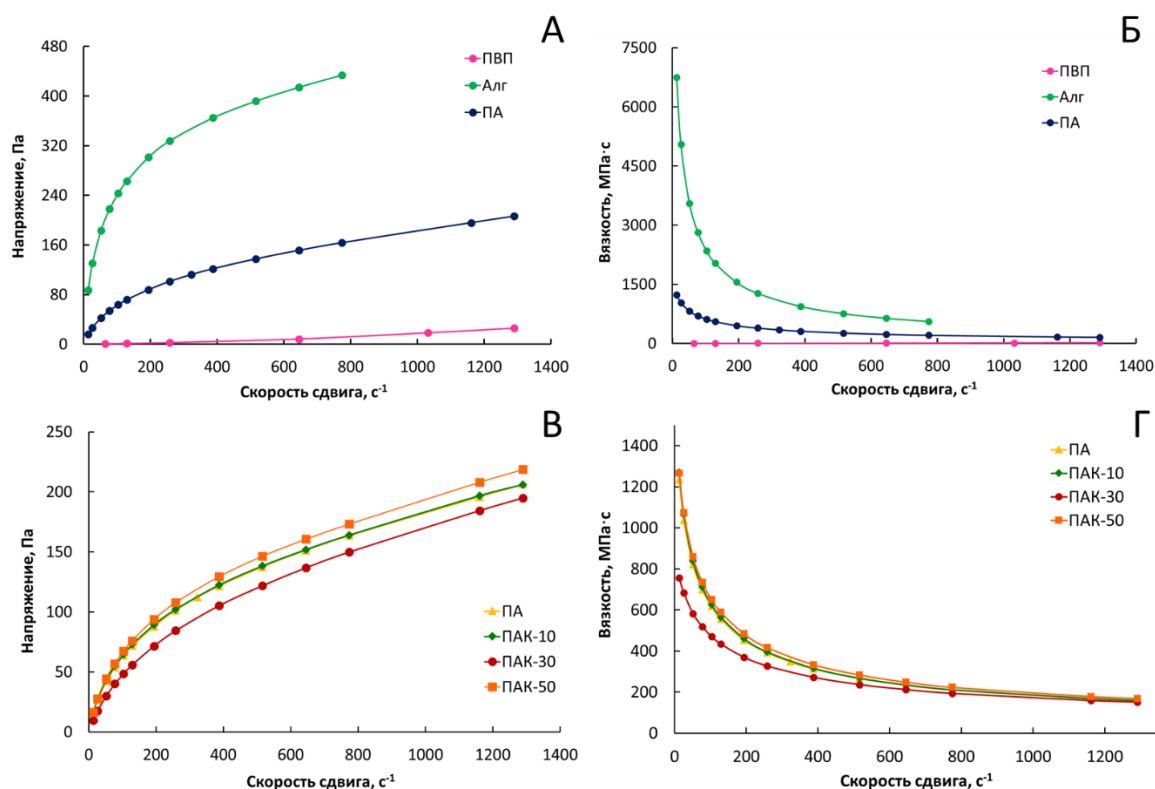


Рисунок 7. Зависимость динамической вязкости и напряжения сдвига от скорости сдвига для полимерных растворов (а,б) и композиционных суспензий (в,г). Концентрация полимера во всех случаях составила 2,5 мас. %

Влияние содержания КГА на кажущуюся вязкость композиционных суспензий выражено в меньшей степени (рис. 7 в, г). При начальных скоростях сдвига (13 с^{-1}) динамические вязкости раствора ПА и суспензий ПАК-10 и ПАК-50 близки и равны 1275, 1290 и 1308 Па·с, соответственно. Кажущаяся вязкость ПАК-30 при этом составляет 780 Па·с, т.е. наблюдается та же зависимость, что и при измерении кинематической вязкости (рис. 6б). С ростом скорости сдвига (774 с^{-1}) ход кривых вязкостей растворов ПА, ПАК-10, и ПАК-50 становятся весьма близким и почти совпадает: так, при 774 с^{-1} показатели

динамических вязкостей равны 218, 215, и 231 Па·с, соответственно, а при максимальной скорости сдвига 1290 с^{-1} – сохраняется значение для всех составов (рис. 7в). Вместе с тем, в суспензию ПАК-50 возникают большие напряжения сдвига (218.69 Па), а в ПАК-30 – меньшие (194.94 Па), а сдвиговые напряжения ПА и ПАК-10 практически равны – 206.19 и 205.88 Па, соответственно (рис. 7г), что, вероятно, связано с количеством наполнителя и увеличением сил трения в суспензии ПАК-50.

Для изучения механизмов сшивания альгината (Алг) ионами металлов применены ЯМР- и ЭПР-спектроскопия. Для ЯМР-исследования Алг сшивали ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} , для ЭПР-исследования – парамагнитными ионами Cu^{2+} и Mn^{2+} . Данные катионы выбраны исходя из литературных данных о прочности их сшивок Алг: Ca^{2+} и Mn^{2+} образуют слабые связи, Sr^{2+} и Cu^{2+} образуют прочные связи. Кроме того, данные катионы играют важную роль в метаболизме костной ткани и способствуют ее восстановлению. Проведено сравнение поведения этих ионов внутри каждой указанной пары, а также между парами.

ЯМР-исследования показали, что при сшивании Алг в растворе ионы Ca^{2+} и Sr^{2+} координируются к COO^- -группам, при этом изменяется окружение атомов водорода G- и M-блоков (пронумерованы на рис. 3а), ввиду чего снижается интенсивность их ЯМР-сигналов. О том, что сшивка ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} произошла, судили по уширению и снижению интенсивности полос этих сигналов в зависимости от концентрации ионов в исследуемом растворе Алг. Вид спектров при сшивании ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} различен (рис. 8), что обусловлено следующим. Ионы Ca^{2+} связываются преимущественно с COO^- -группами G-блоков молекул Алг (гулурановая кислота, рис. 3а): при добавлении раствора CaCl_2 от 2.5 ммоль/г спектр Алг не меняется, т.к. все возможные позиции (COO^- -группы G-блоков для ионов Ca^{2+} заняты. Ионы Sr^{2+} координируются и к COO^- , и к OH -группам G- и M-блоков (рис. 8б), при этом ^1HMR -спектры изменяются с ростом количества ионов Sr^{2+} (от 0.3 до 2.5 ммоль/г). Таким образом, стронций занимает большее число позиций в структуре Алг с близким расположением соседних ионов, а Ca^{2+} связываются только с COO^- -группами G-блоков с большим расстоянием между соседними ионами. Тем не менее, возможность наблюдать ЯМР-спектры сшитого Алг говорит о том, что плотная сшитая сетка не образуется в обоих случаях,

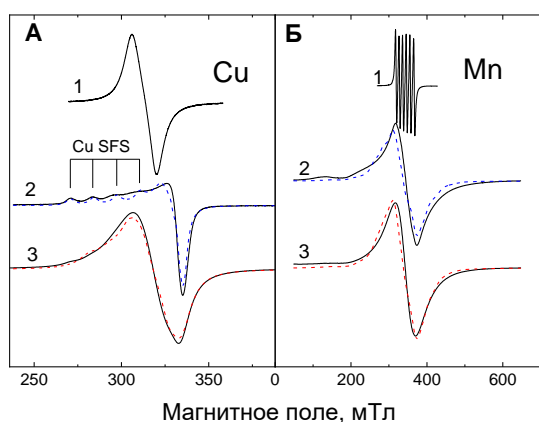


Рисунок 9. ЭПР-спектры меди (А) и марганца (В) в исходной соли (1), в сшитых образцах Алг при 0.2 ммоль/г (2) и 1.2 ммоль/г (для Cu^{2+}) и 0.8 (для Mn^{2+}) (3) концентрации в растворе.

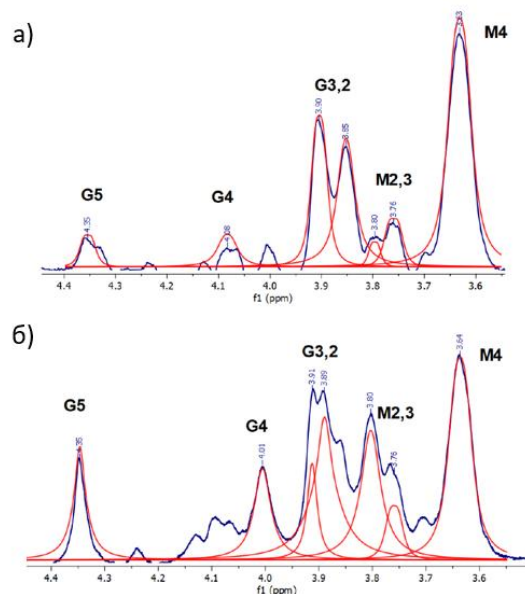


Рисунок 8. Спектры ^1HMR (А) Алг–Са и (Б) Алг–Sr, сшитые равными количествами (0,3 ммоль/г) ионов Ca^{2+} и Sr^{2+} соответственно. Фиттинг показан красными линиями, базовая линия фиттинга показана внизу.

что связано с достаточно большими ионными радиусами Ca^{2+} и Sr^{2+} : $r(\text{Ca}^{2+})=1.04 \text{ \AA}$ и $r(\text{Sr}^{2+})=1.20 \text{ \AA}$, сопоставимыми с длинами связей в структуре Алг (длина связи С–С составляет 1.54 \AA).

ЭПР-исследования выявили различия в поведении Cu^{2+} и Mn^{2+} (рис. 9). При низких концентрациях Cu^{2+} (0.2 ммоль/г) спектр соответствует изолированным ионам с октаэдрической координацией; при высоких (1.2 ммоль/г) формируются парные центры – линейная зависимость их количества от концентрации подтверждает энергетически выгодное образование кластеров, что указывает на координационное сшивание. В случае Mn^{2+} (0.2–0.8 ммоль/г) форма спектра не меняется — ионы остаются изолированными, не образуя пар, что свидетельствует о максимальном межионном расстоянии в структуре Алг.

Исходя из полученных результатов ЯМР- и ЭПР-спектроскопии можно заключить, что при сшивании Алг ионы Sr^{2+} и Cu^{2+} , координируются ко всем доступным кислородсодержащим группам Алг с наименьшим расстоянием между соседними ионами. В случае Cu^{2+} из-за небольшого ионного радиуса (0.78 \AA) это приводит к образованию плотной сшитой сетки Алг. Наоборот, ионы Ca^{2+} и Mn^{2+} занимают ограниченное число позиций в структуре Алг независимо от концентрации, при этом плотная сшитая сетка не образуется.

В **четвертой главе** представлены результаты исследования закономерностей влияния состава и присутствия сшивок полимерных и композиционных пленок на формирование микроструктуры, процессы набухания и механическую прочность при растяжении, а также термическую стабильность.

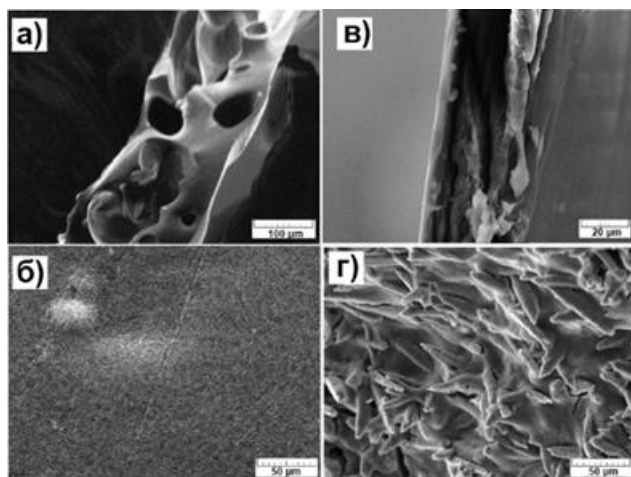


Рисунок 10. СЭМ изображения: пленки ПА в разрезе (а), поверхность пленки ПА-Са (б), пленки ПАК-5 в разрезе (в), поверхность пленки ПАК-5 (г).

Микроструктура. В качестве объектов исследования использовали образцы пленок ПА 1:1, ПАК-5, ПА-Са. До сшивки пленки характеризовались прозрачностью и глянцевой поверхностью, равномерной пористостью с размером пор 20–50 мкм (рис. 10а). Введение даже небольшого количества (5 мас. %) КГА приводит к устранению пор (рис. 10 в, г), обусловленного устранением электростатического отталкивания между анионными группами Алг в результате взаимодействия с частицами КГА, показанного выше. После

сшивания пленки ПА-Са (рис. 9б) становятся непрозрачными матовыми белого цвета и имеют пористую, дендритную микроструктуру (рис.10), характерную для пленок, полученных из растворов полиэлектролитов¹.

Набухание и растворение. Набухание исследовали на образцах пленок ПА 1:1, ПА 1:2, ПА 2:1, ПАК-5 и ПА-Са. Все образцы демонстрируют быстрое начальное набухание в первые 5 мин, после чего процесс стабилизируется, достигая на плато через 1 ч. Наибольшую степень набухания достигают пленки составов ПА 1:1 и ПА 1:2 – 350 и 375 %, соответственно. Степень набухания пленки ПАК-5 с 5 мас.% КГА составляет 325 %.

¹ Mendelsohn, J D, C J Barrett, V V Chan, A J Pal, A M Mayes, and M F Rubner. 2000. “Fabrication of Microporous Thin Films from Polyelectrolyte Multilayers,” no. 10: 5017–23

Сшитые пленки достигают наименьшей степени набухания – 150 % для пленок ПА-Са. Результаты согласуются с данными СЭМ (рис. 10): устранение пор в пленках ПАК-5 и ПА-Са приводит к снижению степени набухания. При более длительном выдерживании (от 1 ч) несшитых пленок в воде они растворяются.

При выдерживании сшитых пленок ПА-Са в водной среде происходит их частичное растворение (рис. 11). В первые сутки образцы теряют 50 мас. %, что связано с выходом водорастворимого ПВП из структуры пленки. В дальнейшем снижение массы незначительно и связано, скорее всего, с растворением части несшитого Алг. На микрофотографиях продемонстрированы изменения полимерной сетки на этапах растворения (рис. 11 а–в): наблюдается появление дендритной структуры, соответствующей «сетке» сшитого Алг (рис. 11 б–в).

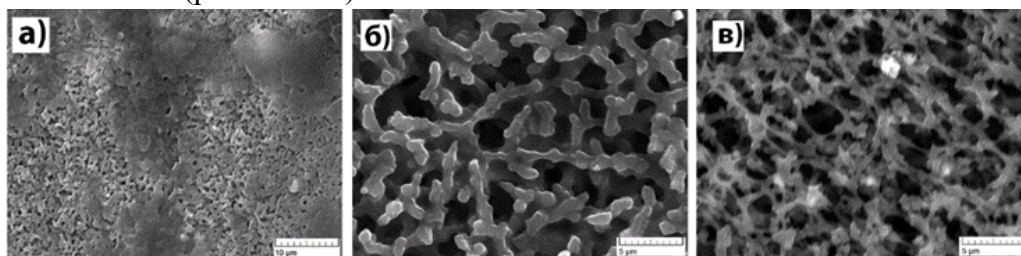


Рисунок 11. Микроструктура поверхности пленки ПА (а) до растворения; (б) спустя 1 сутки растворения; (в) спустя 10 дней растворения. Масштаб: (а) -10 мкм, (б)-(в) – 5 мкм.

Измерения прочности при растяжении пленок ПА показали влияние соотношения Алг:ПВП на ход кривых растяжения. Пленка Алг при растяжении (рис. 12, кривая 1) демонстрирует поведение, характерное для полимеров с плотной сетчатой структурой. Эта структура обусловлена, с одной стороны, водородными связями, образуемыми между карбоксильными ($-\text{COO}^-$) и гидроксильными ($-\text{OH}$) группами в высушенной пленке (рис. 3а), с другой – частично сохранённой распрямлённой конформацией полимерных цепей, образованной в исходном водном растворе вследствие электростатического отталкивания одноимённо заряженных групп. Благодаря этому, пленки характеризуются высоким модулем упругости и прочностью: 4400 МПа и 93 МПа, соответственно. Ход кривой смесевой пленки ПА 1:2 обусловлен доминирующим вкладом Алг в свойства пленок (рис. 12, кривая 2); показатели модуля упругости и прочности остаются на высоком уровне: 2200 МПа и 68 МПа, соответственно. Увеличение содержания ПВП в пленках ПА 1:1 и ПА 2:1 (рис. 12, кривые 3–4) приводит к снижению модуля упругости и появлению площадки текучести на кривой растяжения. Это свидетельствует о переходе к пластичному поведению, обусловленному доминированием содержания ПВП, не имеющего сетчатой структуры и нарушающем жесткую структуру Алг в смесевых пленках. Эти пленки обладают сниженными модулем упругости и прочностью: 2100 МПа и 53 МПа, 2000 МПа и 58 МПа, соответственно для ПА 1:1 и ПА 2:1.

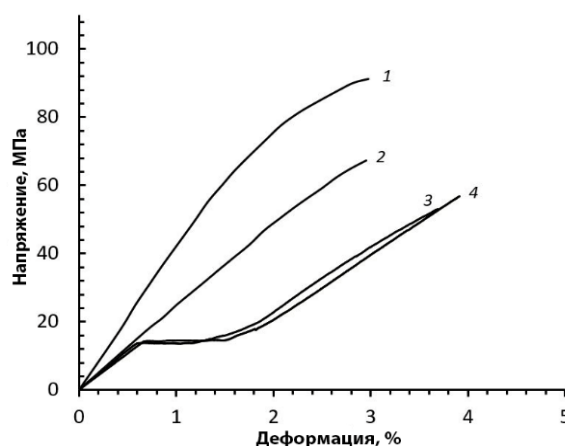


Рисунок 12. Кривые растяжения композиционных пленок с составом матрицы: 1 – Алг, 2 – ПА 1:2, 3 – ПА 1:1, 4 – ПА 2:1

Помимо содержания второго полимерного компонента в составе пленок (ПВП), на их поведение и прочность при растяжении влияет также вид сшивающего иона. В рамках

сравнительного исследования пленки на основе АЛГ и ПА были сшиты катионами Ca^{2+} , Ba^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} (Алг-Са, Алг-Ва, Алг-Су, Алг-Мн), результаты измерения прочностных показателей при растяжении представлены на рис. 13. Выбор катионов для сшивания обусловлен как литературными данными о прочности сшивания АЛГ (в т.ч. подтверждено выше), так и их биологической значимостью: катионы Ca^{2+} нетоксичны и биологически активны; Cu^{2+} и Mn^{2+} обладают антибактериальной активностью; Ba^{2+} введен как структурный аналог Ca^{2+} (в качестве пары к Ca^{2+} для сравнения с парой Cu^{2+} и Mn^{2+} по аналогии с ЯМР- и ЭПР-исследованиями в главе 3). Концентрации катионов в растворах для сшивки были одинаковые и составляли 0.5 М.

Установлено, что сшитые пленки АЛГ можно выстроить в ряд по мере уменьшения прочностных свойств $\text{Алг-Су} > \text{Алг-Са} > \text{Алг-Ва} > \text{Алг-Мн}$, где наибольшую прочность при растяжении и модуль упругости демонстрируют пленки Алг-Су (42 МПа и 4 ГПа), вероятно, за счет образования прочных связей с матрицей АЛГ и плотной сетки, как это показано в ЭПР-исследовании сшивания АЛГ в главе 3. Пленки Алг-Ва характеризуются модулем упругости 2 ГПа и прочностью 40 МПа. Пленки Алг-Са имеют сопоставимые характеристики: модуль упругости 1 ГПа и прочность 41 МПа, несмотря на менее плотные сшивки, согласно ЯМР-спектрам. Это указывает на то, что сшитая сетка альгината, образованная при сшивании ионами Ca^{2+} , способна более эффективно рассеивать энергию при деформации за счет большей подвижности полимерных цепей. Пленки Алг-Мн обладают наименьшим модулем упругости прочностью: 0.5 ГПа и 7 МПа, соответственно, что также согласуется с данными ЭПР-спектроскопии (рис. 13).

В смесевых пленках присутствие ПВП приводит к снижению модуля упругости, и для большинства составов – росту относительного удлинения. Так, в ряду Cu-Mn-Ba добавление ПВП в состав пленки 1:1 приводит к увеличению показателя на 40–50 % (рис. 13). Как показано ранее, ПВП действительно снижает прочность при растяжении за счет нарушения жесткой сетки АЛГ, выступая в качестве пластификатора. Смесевая пленка ПА-Са имеет в 3 раза меньший модуль упругости и в 7 раз меньшую прочность по сравнению с пленкой Алг-Са (рис. 13). При сшивании ионами Mn^{2+} введение ПВП практически не влияет на модуль упругости (рис. 13б), однако повышает прочность и разрывное удлинение в 2 раза (рис. 143 а и в), таким образом снижая их хрупкость. В целом, присутствие ПВП делает пленки менее хрупкими, более гибкими и эластичными.

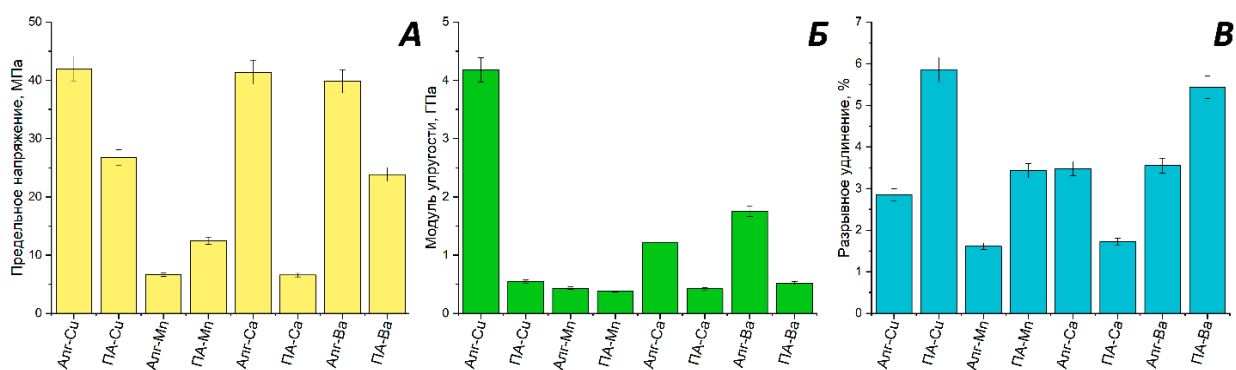


Рисунок 13. Характеристики механической прочности пленок АЛГ и ПА, Алг-Су и ПА-Су, Алг-Мн и ПА-Мн, Алг-Са и ПА-Са и Алг-Ва и ПА-Ва: (а)– предельное напряжение, (б) – модуль упругости, (в) – разрывное удлинение.

Проведены испытания на растяжение влажных пленок, поскольку остеопластические мембраны применяют во влажном виде. Эксперименты проводили для пленок ПА, сшитых одними ионами Ba^{2+} , парой ионов Ba^{2+} и Ca^{2+} , а также Ca^{2+} и Sr^{2+} , для выявления влияния катионов на прочностные свойства материалов. Выбраны катионы,

демонстрирующие промежуточные значения прочности при растяжении между высокопрочными пленками ПА-Cu и слабо шитыми ПА-Mn (рис. 14). Установлено, что повышение влажности пленок ПА до 27–38 мас. % приводит к снижению модуля упругости в 7, 2 и 4 раз, соответственно для указанных групп сшивающих катионов (рис. 15). Поскольку были использованы ионы, более прочно сшивающие Алг (Ba^{2+}) и менее прочно сшивающие (Ca^{2+} и Sr^{2+}) (на основе данных прочности пленок ПА1:1, сшитых ионами Ca), снижение прочностных характеристик связано с нарушением плотности сшивки из-за конкуренции катионов при сшивании, что положительно сказывается на гибкости и эластичности пленок. Таким образом, сшивание нетоксичными, биоактивными ионами Ca^{2+} и Sr^{2+} позволяет сохранить достаточную прочность влажных пленок (сопоставима с таковыми у коммерческих мембран), при этом достичь их гибкости и эластичности, что необходимо для их практического применения.

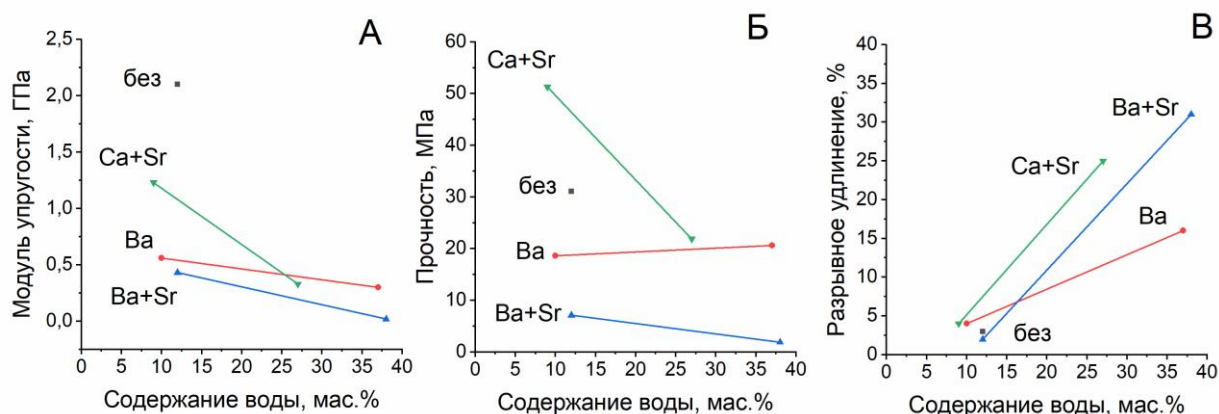


Рисунок 14. Механические характеристики суховоздушных и влажных композиционных пленок, сшитых ионами двухвалентных металлов: (а) – модуль упругости, (б) – прочность, (в) – разрывное удлинение.

Получены данные о термическом разложении пленок ПА, ПА-Ca, ПА-Cu и ПА-Mn на воздухе (рис.15). Кривые пленок ПА, ПА-Ca и ПА-Mn характеризуются тремя стадиями разложения: до 180 °С – потеря адсорбированной и связанной воды, при 200–294 °С – деструкция Алг, 294–520 °С – деструкция ПВХ. Сшивание ионами Mn^{2+} не оказывает существенного влияния на температурный профиль термического разложения пленок по сравнению с несшитым образцом, а сшивание ионами Ca^{2+} смещает начало разложения Алг на 20 °С в высокотемпературную область, при этом кривая ПА-Ca имеет более пологий характер при 200–400 °С, что свидетельствует о повышении термической стабильности полимерной матрицы (рис. 15, зеленая кривая), что коррелирует с полученными данными о более прочных координационных связях.

При сшивании пленок ионами Cu^{2+} интенсивная потеря массы начинается на 65 °С раньше, и при 200 °С образец теряет больше 60 мас.%. Это связано с тем, что медь, как переходный металл, катализирует окислительные реакции в полимере и ускоряет его термическое разложение несмотря на более прочные сшивки по сравнению с ионами Ca^{2+} , что показано выше в спектральных исследованиях сшивания Алг и механических испытаниях на растяжение.

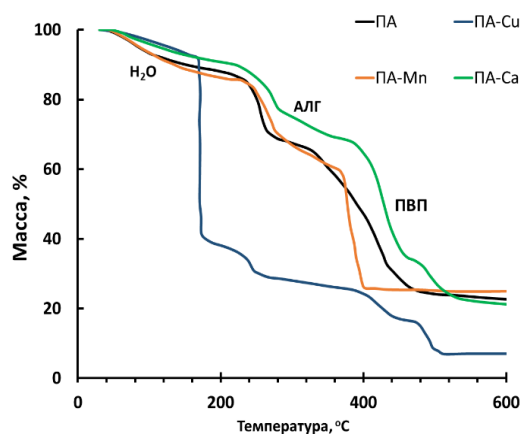


Рисунок 15. Кривые ТГА пленок ПА, ПА-Ca, ПА-Cu, ПА-Mn.

Исследование пленочных композитов выявило ключевые закономерности, обусловленные составом и сшивкой полимерной матрицы. Однако при переходе к объёмным пористым скэффолдам, полученным лиофилизацией, наблюдаются принципиально иные структурно-функциональные зависимости, определяемые не только составом, но и особенностями формирования пористой архитектуры.

Глава 5 посвящена исследованию свойств объёмных пористых композитов ПАК, состоящих из полимерной матрицы ПА (ПВП:Алг 1:1) и наполнителя – порошка КГА в количестве 10, 20, 30, 40, 50 мас.%.
Пористые композиты ПАК

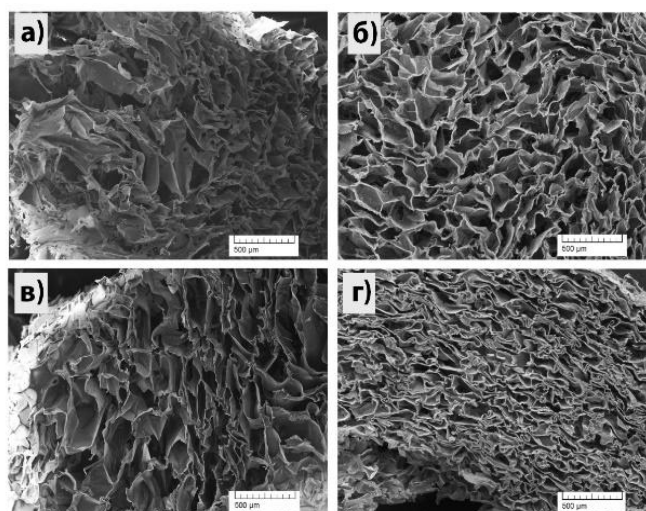


Рисунок 16. СЭМ изображения объёмных пористых композитов: (а) ПАК-10, (б) ПАК-10 после сжатия, (в) ПАК-50, (г) ПАК-50 после сжатия.

представляют собой ячеистый

материал, структура которого представлена порами неправильной формы, размерами 170–330 мкм, с тонкими стенками толщиной 10–20 мкм, в которых распределены частицы КГА размером ≤ 20 мкм (рис. 16 а,б). Объёмная доля пор и их размеры зависят от содержания КГА. Материал без наполнителя характеризуется показателем пористости 95 об.% (рис. 17, а); с ростом содержания КГА до 40 мас.% пористость снижается на 25 об.%; при этом средний размер пор уменьшается от 325 до 166 мкм. Это связано с уменьшением кинематической вязкости композиционных суспензий (рис. 5а) и, следовательно, снижением способности суспензий удерживать пузырьки воздуха. Для состава ПАК-50 увеличение пористости и среднего размера пор (против общей тенденции) объясняется увеличением кинематической вязкости соответствующего композиционной суспензии (рис. 5а) по сравнению с вязкостью суспензий, содержащих 10–40 мас.% КГА. Кажущаяся плотность увеличивается с ростом содержания КГА, поскольку плотность наполнителя больше плотности полимера (рис. 17).

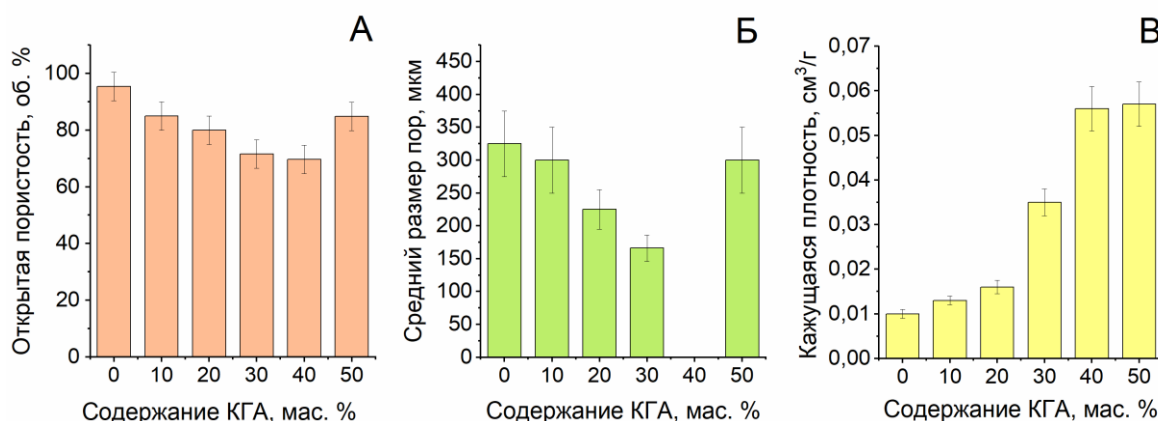


Рисунок 17. Характеристики пористости и плотности объёмных пористых композитов ПАК в зависимости от содержания КГА: (а) – открытая пористость, (б) – средний размер пор, (в) – кажущаяся плотность.

Вид кривых сжатия полученных композитов характерен для таких макропористых материалов вне зависимости от состава (рис. 18): поведение под нагрузкой определяется характером пор и их объёмной долей. По наклону начального прямолинейного участка

кривой сжатия (рис. 18 а–б) рассчитан модуль сжатия пористых композитов ПАК (рис. 18 в). Установлено, что различие в значениях модуля для композитов ПА, Алг-Са, ПАК-10 и ПАК-20 составляет не более 15 % (рис. 18 в), показатель возрастает в 4 раза для состава ПАК-30 и в 24 раза – для ПАК-50 за счет роста содержания наполнителя.

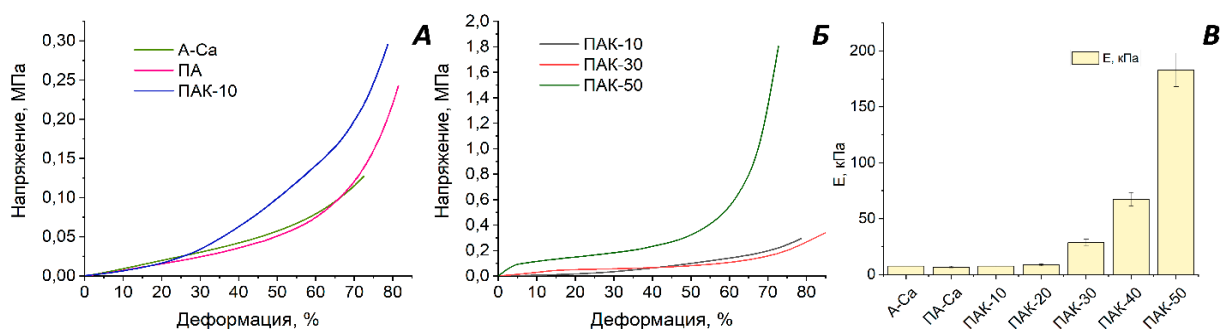


Рисунок 18. Кривые сжатия композитов ПА, Алг-Са и ПАК-10 (а) и ПАК-10, ПАК-30 и ПАК-50 (б), модуль сжатия композитов ПАК в зависимости от состава ($\Delta=10\%$) (в).

При сжатии образцы легко деформируются, а поры приобретают единую ориентацию в направлении, перпендикулярном направлению нагрузки (рис. 18 в,г). Этот эффект усиливается с увеличением содержания КГА, особенно для композитов, содержащих КГА выше 30 мас.%. При этом материалы ПАК способны полностью или частично восстанавливать первоначальную форму. Для образцов ПА-Са, Алг-Са и ПАК-30 была измерена истинная обратимая деформация (рис. 19), которая описывает процесс деформирования во времени. Показано, что обратимая деформация снижается по мере возрастания степени сжатия (рис. 19а).

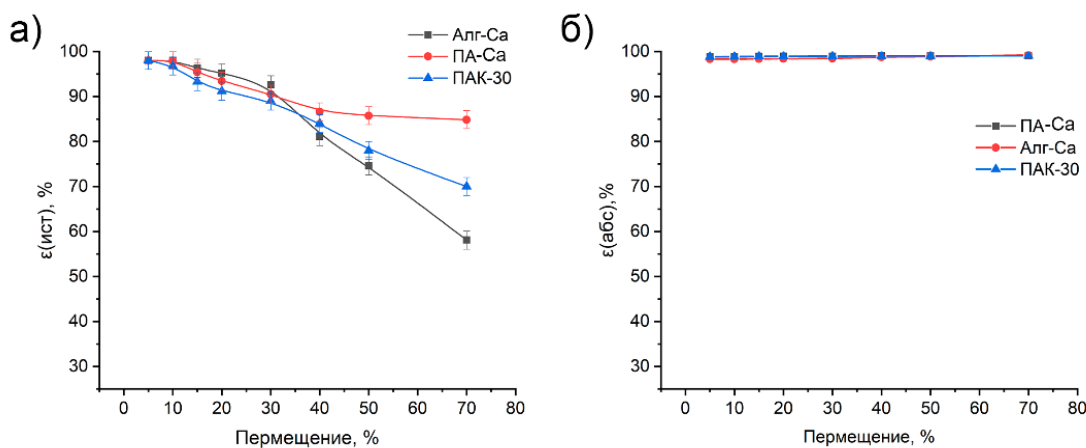


Рисунок 19. Кривые обратимой деформации ПА-Са, Алг-Са и ПАК-30: (а) истинная обратимая деформация; (б) абсолютная обратимая деформация.

Ее снижение более выражено для образца Алг-Са и менее – для образца ПА-Са (рис. 19а). При этом абсолютная деформация, в целом характеризующая способность материала восстанавливаться и учитывающая величину изменения размера, почти не зависит от состава композита и степени сжатия (рис. 19б).

Шестая глава посвящена описанию результатов биологических испытаний *in vitro* на биосовместимость и биodeградации, а также биологических эффектов *in vivo*.

Исследование биосовместимости композитов показало, как полимерные, так и композиционные материалы не являются цитотоксичными и биосовместимы: выживаемость клеток на поверхности материалов ПА и ПАК составила 95% ($\Delta=5\%$). При этом клетки фибробластов мыши и клетки пульпы зуба демонстрировали низкую адгезию

к полимерным образцам. Введение КГА улучшает адгезию клеток: их жизнеспособность увеличивается на 10 %, при этом они сохраняют сферическую форму (рис. 20).

Пористая структура объемных образцов способствует распределению клеток в порах, что обеспечивает лучшую биоинтеграцию.

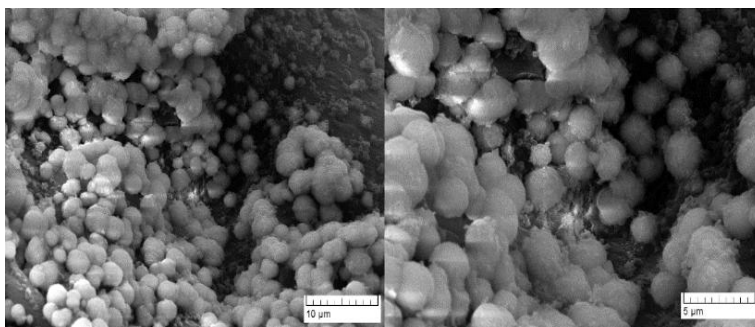


Рисунок 20. Морфология клеток пульпы зуба на поверхности композита ПАК.

Низкая адгезия клеток к поверхности композитов ПАК не является негативным качеством: она препятствует избыточному разрастанию фиброзной ткани, что подтверждено в испытаниях *in vivo*. На модели брюшной спайки у мышей (рис. 21) с использованием пленок ПА, ПАК-5 и сшитой пленки ПА-Са показало, что материалы не только биосовместимы, но и стимулируют регенерацию тканей, вызывая экспрессию генов, ответственных за свертывание крови, рассасывание фиброзной ткани, пролиферацию здоровых клеток. Несшитые пленки легко удалялись из операционной полости за счет биоабсорбции. Сшивание пленок приводило к невозможности их удаления данным путем. Присутствие КГА не вызвало воспаления, однако ожидаемо спровоцировало образование небольшой грануляции вокруг твердых частиц из-за отсутствия в мягких тканях специфических клеток, способных резорбировать КГА. По этой же причине сшитая пленка также не была удалена организмом мыши из оперированной полости за 7 дней, в то же время вызывая те же восстановительные восстановительные реакции.

Хотя испытания *in vivo* проводились на модели брюшной спайки, полученные данные позволяют прогнозировать поведение разработанных материалов в условиях костного дефекта. Продемонстрированная биосовместимость, отсутствие хронического воспаления, способность к контролируемой деградации и выраженный антиадгезионный эффект свидетельствуют о потенциале использования данных композитов в качестве барьерных мембран в стоматологии и ортопедии, где предотвращение прорастания мягких тканей в костной дефект является критически важной функцией.

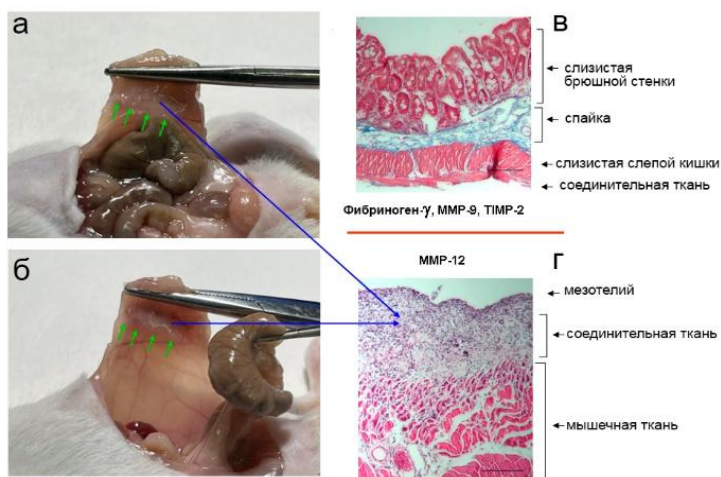


Рисунок 21. Общий вид и структура спаек. а-в: спайки в группе пленок ПА-Са (а) и остаточная адгезия в группе пленок ПА (б). в-г: гистологическое изображение участков спайки, образованных клетками слепой кишки (в) и стенки брюшины (г). Масштабная линейка – 30 мкм.

Хотя испытания *in vivo* проводились на модели брюшной спайки, полученные данные позволяют прогнозировать поведение разработанных материалов в условиях костного дефекта. Продемонстрированная биосовместимость, отсутствие хронического воспаления, способность к контролируемой деградации и выраженный антиадгезионный эффект свидетельствуют о потенциале использования данных композитов в качестве барьерных мембран в стоматологии и ортопедии, где предотвращение прорастания мягких тканей в костной дефект является критически важной функцией.

Выводы

1. Компонентный состав влияет на реологические и структурные свойства композиционных суспензий на основе альгината, поливинилпирролидона и карбонатгидроксиапатита: при введении карбонатгидроксиапатита (КГА) в количестве от 10 до 30 мас.% кажущаяся вязкость при фиксированной скорости сдвига (13c^{-1}) снижается с 1271 мПа·с до 756 мПа·с, а с ростом содержания КГА до 50 мас.% – возрастает до 1267 мПа·с. При этом изменяются параметры пористости объемных пористых композитов ПАК: при содержании КГА 10 мас.% объемная пористость составляет 85 об.%, а средний размер пор – 320 мкм, при содержании КГА 30 мас.% – 71 об.% и 170 мкм, а при содержании 50 мас.% КГА – 84 об.% и 300 мкм.
2. Методами ЯМР- и ЭПР-спектроскопии выявлены различия в механизмах сшивания альгината ионами Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} и Mn^{2+} : ионы Ca^{2+} и Mn^{2+} образуют слабые сшивки с ограниченным числом связывающих центров, в то время как Sr^{2+} и особенно Cu^{2+} координируются к большему числу функциональных групп молекул альгината и формируют более плотные и прочные сетки. При этом прочность при растяжении пленок, сшитых ионами Ca^{2+} и Cu^{2+} , практически одинакова – 41 и 42 МПа, соответственно, однако модуль упругости различается в 3.5 раза – 1.2 ГПа и 4.2 ГПа, соответственно. Это может быть связано с тем, что плотная сетка, образованная ионами Cu^{2+} , обеспечивает высокую прочность, но ограничивает пластическую деформацию пленок (2.8%), в то время как разреженная сетка, образованная Ca^{2+} , при той же позволяет достичь большей деформации (3.4%).
3. Введение поливинилпирролидона (ПВП) в альгинатную матрицу (образцы ПА) снижает модуль упругости и предел прочности пленок, одновременно повышая гибкость: так, прочность пленок на основе чистого альгината, сшитого Cu^{2+} (Алг-Cu), составляет 42 МПа, тогда как у композитных пленок ПА-Cu (соотношение ПВП:Алг 1:1) – в 2 раза ниже. Аналогично, модуль упругости пленок Алг-Ca равен 1.2 ГПа, а у пленок ПА-Ca – 0.5 ГПа. При этом наблюдается рост относительного удлинения при разрыве на 40–50 %, что делает композиты менее хрупкими. Композиты, сшитые ионами Cu^{2+} , показали наименьшую термическую стабильность: потеря 60 мас.% происходит при 200 °С, в то время как при сшивании ионами Ca^{2+} температура начала разложения увеличивается на 20 °С.
4. Введение поливинилпирролидона (ПВП) в соотношении с альгинатом 1:1 приводит к появлению площадки текучести на кривых растяжения не сшитых пленок и снижению модуля упругости в 2 раза, а также увеличению разрывного удлинения с 2.9 до 3.8% по сравнению с пленками из альгината. Введение 5 мас.% КГА в состав смесевой пленки, сшитой ионами Ca^{2+} , повышает модуль упругости в 1,7 раз и прочность в 1,6 раз, а введение 50 мас.% КГА в 10 раз повышает модуль и предельное напряжение при сжатии объемных пористых композитов. Это подкрепляется данными ЯМР- и ЭПР-спектроскопии о физических связях между полимерной матрицей и наполнителем (КГА).
5. Подтверждена биосовместимость и биофункциональность разработанных материалов *in vitro* и *in vivo*: композиты на основе альгината-ПВП не проявляют цитотоксичности, способствуют адгезии клеток при наличии КГА в составе, демонстрируют гемостатический и антиадгезионный эффекты, а также стимулируют регенерацию повреждённых тканей.

Основные публикации по теме диссертации

Публикации по теме диссертации

Публикации в ведущих периодических изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ:

1. Композиционные минерал-полимерные материалы, содержащие катион замещенные фосфаты кальция. – Текст: непосредственный / **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**, Слукин П.В. [и др.] // Перспективные материалы. – 2022. – Т. 7. – С. 35-48. (перев.: Composite Mineral–Polymer Materials with Cation-Substituted Calcium Phosphates / **A. Forysenkova (Grechishnikova) A.A.**, Slukin P.V., Trofimchuk E.S. [et al.]. // Inorg. Mater. – 2023. – Vol. 14. – № 2. – P.331-340.)
2. Пористые матрицы на основе поливинилпирролидона, содержащие фосфаты кальция, для медицинских применений / **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**, Гафуров М.Ф. [и др.]. // Известия Академии Наук. Серия Химическая. – 2022. – Т. 3. – С. 543-548. (перев.: Porous matrixes based on polyvinylpyrrolidone containing calcium phosphates for medical application / Fadeeva I.V., **Forysenkova (Grechishnikova) A.A.**, Gafurov M.R. [et.al.]. // Russ. Chem. Bull. – 2022. – Vol. 71. – № 3. – P. 543-548.)
3. Polyvinylpyrrolidone–Alginate Film Barriers for Abdominal Surgery: Anti-Adhesion Effect in Murine Model / **Forysenkova (Grechishnikova) A.A.**, Konovalova M.V., Fadeeva I.V. [et al.]. // Materials (Basel). –2023. – Vol. 16. – № 16. P.1-17.
4. Polyvinylpyrrolidone—Alginate—Carbonate Hydroxyapatite Porous Composites for Dental Applications / **Forysenkova (Grechishnikova) A.A.**, Fadeeva I.V., Deyneko D.V. [et al.] // Materials (Basel). –2023. –Vol. 16. – № 12. –P. 1-16.
5. NMR and EPR Spectroscopies Investigation of Alginate Cross-Linking by Divalent Ions / **Forysenkova (Grechishnikova) A.A.**, Ivanova V.A., Fadeeva I.V. [et al.]. // Materials. – 2023. – Vol. 16. – № 7. – P. 1-11.
6. Magnetic Resonance-Based Analytical Tools to Study Polyvinylpyrrolidone–Hydroxyapatite Composites / Petrova A., Mamin G., **Forysenkova (Grechishnikova) A.** [et al.] // Polymers. – 2023. – Vol. 15. – №22. P. 1-15.
7. Влияние состава на вязкость растворов и структуру высокопористых композиционных материалов альгинат–поливинилпирролидон– карбонатгидроксиапатит/ **Гречишникова А. А.**, Трофимчук Е. С., Егоров А. А. [и др.]. // Перспективные материалы. – 2025. – № 11. – С. 17–28. (перев.: Effect of Composition on Viscosity of Solutions and Structure of Highly Porous Composite Materials of Alginate Polyvinylpyrrolidone-Carbonate Hydroxyapatite/ **Grechishnikova (Forysenkova) A.A.**, Trofimchuk E.S., Egorov A.A. [et.al]. // Inorg. Mater. – 2026. – Vol. 17. – № 2. – P. 374–383.)

Патенты:

1. Способ получения высокопористых композиционных материалов на основе биополимеров с фосфатами кальция для медицины/ **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**, Егоров А.А., Трофимчук Е.С. [и др.]. //Патент РФ № 2854380. Оpubл. 22.05.2024

Тезисы докладов:

1. Получение и биологические свойства смесевых пленок на основе поливинилпирролидона с фосфатами кальция / **Форысенкова А.А.**, Павлова М.В., И.В. Фадеева И.В. [и др.]. // XI Конференция молодых ученых по общей и неорганической химии. Тезисы докладов. – Москва, ИОНХ РАН, 2021. С. 189.
2. **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**/ Композиционные материалы на основе биополимеров с карбонатгидроксиапатитом для хирургии костной ткани - Текст: электронный/ XVIII Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Тезисы докладов. – Москва, ИМЕТ РАН, 2021. С. 195-197.
3. Материалы на основе катион-замещенных трикальций фосфатов с антибактериальными свойствами для хирургии костной ткани/ **Форысенкова А.А.**,

Фадеева И.В., Горемыкина Е.В., [и др.]. // XII конференция молодых ученых по общей и неорганической химии. Тезисы докладов. – Москва, ИОНХ РАН, 2022, С. 156.

4. Композиционные материалы на основе катион-замещенных трикальций фосфатов с антибактериальными свойствами/ **Форысенкова А.А.**, Слукин П.В., Давыдова Г.А., [и др.]. // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022». Тезисы докладов. – Москва, МГУ, 2022. С. 893.

5. **Форысенкова (Гречишникова) А.А.** / Композиционные материалы на основе биополимеров с антибактериальными свойствами для медицины. // Сборник трудов XIX Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Тезисы докладов. – Москва, ИМЕТ РАН, 2022. С. 187.

6. **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**/ Исследование ионного сшивания альгината методом жидкостной спектроскопии ЯМР/ Форысенкова А.А., Иванова В.А. // XXVI Всероссийская конференция молодых ученых-химиков. Тезисы докладов. – Нижний Новгород, ННГУ, 2023. С. 517.

7. Исследование сшивания альгината бивалентными ионами с помощью ¹H ЯМР и ЭПР спектроскопии/ **Форысенкова А.А.**, Иванова В.А., Мамин Г.В., [и др.]. // 65 Всероссийская научная конференция МФТИ в честь 115-летия Л.Д. Ландау. Тезисы докладов. – Москва, МФТИ, 2023. С. 320.

8. **Форысенкова (Гречишникова) А.А.**/ Композиционный материал поливинилпирролидон–альгинат–карбонатгидроксиапатит для применения в стоматологии // XX Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Тезисы докладов. – Москва, ИМЕТ РАН, 2023. С. 180.

9. Биосовместимые пористые композиционные материалы на основе альгината-поливинилпирролидона-карбонатгидроксиапатита/ **Форысенкова А.А.**, Трофимчук Е.С., Егоров А.А., Антонова О.С., [и др.]. // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2024». Тезисы докладов. – Москва, МГУ, 2024. С. 945.

10. Пористые композиционные материалы на основе биополимеров с карбонатгидроксиапатитом для медицины/ **Форысенкова А.А.**, Трофимчук Е.С., Антонова О.С., Егоров А.А., [и др.]. // IX Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры–2024». Тезисы докладов. – Москва, МГУ, 2024. С. 566.

АВТОР ВЫРАЖАЕТ БЛАГОДАРНОСТЬ

Научному руководителю в.н.с., к.х.н. **Фадеевой И.В.** за помощь в постановке целей и задач исследования, в проведении экспериментов, обсуждении результатов и общее руководство работой. Сотрудникам Лаборатории керамических композиционных материалов ИМЕТ РАН: **Антоновой О.С.** – за проведение СЭМ исследований, к.т.н. **Егорову А.А.** – за помощь в получении пористых композиционных материалов, и.о. зав. лаб., к.х.н. **Петраковой Н.В.** за помощь в редактировании и структурировании автореферата, зав. отделом аспирантуры и докторантуры **Тютюковой Ю.Б.** – за помощь в организационных вопросах; секретарю Ученого совета к.г.-м.н. **Ивичевой С.Н.** за профессиональную помощь в подготовке диссертационной работы к защите; Сотрудникам МГУ им. М.В. Ломоносова: к.х.н. **Трофимчук Е.С.** – за помощь в проведении реологических и термогравиметрических исследований, механических испытаний; д.х.н. **Дейнеко Д.В.** – за проведение рентгенофазового анализа; сотрудникам Института физики Казанского Федерального Университета: к.ф.-м.н. **Мамину Г.В.**, к.ф.-м.н. **Гнездилову О.И.**, д. ф.-м.н. **Гафурову М.Р.** за проведение ЭПР-исследований; сотруднику МФТИ к.ф.-м.н. **Ивановой В.А.** за помощь в проведении ЯМР-исследований; сотруднику Кольского научного центра РАН к.х.н. **Гостевой А.Н.** – за помощь в проведении ИК-спектроскопических исследований; сотруднику ИТЭБ РАН к.ф.-м.н. **Давыдовой Г.А.** за помощь в проведении *in vitro* исследований; сотрудникам ИБХ РАН к.б.н. **Свищевской Е.В.**; к.б.н. **Коноваловой М.В.** за проведение *in vivo* исследований; сотруднику ПМГМУ имени И.М. Сеченова к.х.н. **Рау Д.В.** за помощь в написании статей.