

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»**

Пермякова Елизавета Сергеевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ ПОКРЫТИЯ  
ПОЛИКАПРОЛАКТОНОВЫХ СУБМИКРОННЫХ ВОЛОКОН ДЛЯ  
МЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ**

2.6.6 – Нанотехнологии и наноматериалы

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:  
доктор физико-математических наук,  
Штанский Д.В.

Москва – 2025

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы:** Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно регистрируется более 1,2 миллиона смертей, обусловленных инфекциями, вызванными патогенами, устойчивыми к антибиотикам [1]. Антибиотикорезистентные штаммы бактерий представляют серьёзную клиническую проблему в лечении хронически инфицированных ран, при регенерации костной ткани, а также при развитии нозокомиальных инфекций у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ). Это значительно увеличивает длительность госпитализации, повышает риск летальных исходов и оказывает существенное экономическое давление на системы здравоохранения.

В этих условиях актуальным является разработка новых материалов с антимикробными свойствами. Нано- и субмикронные волокна на основе поликапролактона (ПКЛ), полученные методом электроформования, рассматриваются как перспективные материалы для медицинских применений благодаря совокупности физико-химических и биологических характеристик: высокой удельной поверхности, биосовместимости, достаточной механической прочности и биodeградируемости в физиологических условиях. Нетканые материалы из таких волокон отличаются высокой пористостью и воздухопроницаемостью, что обеспечивает эффективную фильтрацию аэрозольных частиц и биологических агентов, включая вирусы и бактерии [2]. Структурная архитектура электроформованных волокон, имитирующая естественную организацию внеклеточного матрикса, способствует адгезии, пролиферации и дифференцировке клеток, что делает их перспективными для применения в регенеративной медицине — в частности, при восстановлении костной, хрящевой, нервной и кожной тканей. Кроме того, данные материалы могут использоваться в системах локальной доставки лекарственных средств, включая терапию онкологических заболеваний и лечение хронических ран, а также в качестве фильтрующих слоев для очистки воздуха от микробиологических и аэрозольных загрязнений.

Для расширения функциональных возможностей и повышения эффективности применения ПКЛ-волокон в медицинских целях актуальной задачей является придание им антимикробной активности [3]. Современные тенденции в развитии медицинских технологий требуют создания материалов, способных эффективно подавлять рост патогенных микроорганизмов, особенно на фоне растущей устойчивости к традиционным антибиотикам.

Одним из перспективных направлений является разработка антибактериальных покрытий, обеспечивающих локальное и пролонгированное действие. При этом ключевыми параметрами являются ёмкость загрузки терапевтического агента и кинетика его высвобождения. Инкорпорация биоактивных соединений может осуществляться как на поверхности материала (путём физической адсорбции, электростатического взаимодействия или ковалентного связывания), так и в объём полимерной матрицы (например, методом ионной имплантации). Физическая адсорбция, несмотря на простоту реализации, характеризуется слабыми межмолекулярными взаимодействиями, что приводит к быстрому «выбросу» активного вещества в начальный период эксплуатации и не обеспечивает длительного терапевтического эффекта. Электростатическое связывание позволяет увеличить объём загрузки и замедлить высвобождение, однако такие системы чувствительны к изменениям pH среды и недостаточно стабильны в физиологических условиях. Ковалентная иммобилизация терапевтических агентов является более предпочтительной стратегией, поскольку обеспечивает прочную фиксацию активных молекул на поверхности, препятствуя адгезии планктонных бактерий и снижая риск формирования биоплёнок.

Для реализации ковалентного или электростатического присоединения терапевтических агентов к поверхности необходимо наличие активных функциональных

групп. Одним из эффективных подходов к созданию таких групп на поверхности полимерных материалов является плазмохимическое осаждение полимерных покрытий. Данный метод позволяет формировать ультратонкие (толщиной менее 100 нм) и стабильные покрытия с высокой адгезией к подложке, а также обеспечивает возможность модификации объектов сложной геометрии. Технология отличается высокой воспроизводимостью и возможностью обработки широкого спектра материалов, включая термочувствительные полимеры.

Альтернативным подходом к обеспечению антимикробных свойств является использование наночастиц на основе биоцидных металлов и их оксидов (Ag, Ag<sub>2</sub>O, ZnO и др.), способных к контролируемому высвобождению ионов, обладающих выраженным бактерицидным действием. Методы магнетронного напыления и ионной имплантации позволяют эффективно внедрять такие наночастицы в состав материалов, однако их применение ограничено в случае термочувствительных полимеров вследствие возможной деградации матрицы. Таким образом, разработка устойчивых, биосовместимых и функционально эффективных антибактериальных покрытий на основе ПКЛ-волокон требует тщательного подбора методов модификации и оптимизации технологических параметров.

### **Цель диссертационной работы:**

Целью работы является разработка способов модификации волокон ПКЛ для повышения биоактивных свойств методами плазмохимического осаждения из газовой фазы в системе Ar/CO<sub>2</sub>/C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (*метод 1*) или формирование биоактивного покрытия магнетронным распылением композиционной мишени состава TiC+10% Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (*метод 2*), а также разработки методов получения антибактериальных материалов за счет введения в состав бактерицидных агентов (гентамицина (*метод 3*) и наночастиц Ag<sub>2</sub>O/ZnO (*методы 4-6*))

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие задачи:

1) Разработка технологического режима получения субмикронных волокон поли-ε-капролактона (ПКЛ) методом электроформования, обеспечивающего оптимальное распределение диаметра волокон в диапазоне 50–500 нм, соответствующее структуре внеклеточного матрикса.

2) Разработка методики формирования биоактивного покрытия на поверхности термочувствительных субмикронных волокон ПКЛ (ПКЛ-СООН) путем низкотемпературного высокочастотного (ВЧ, 13.56 МГц) плазмохимического осаждения карбоксилсодержащих полимерных покрытий из смеси газов CO<sub>2</sub>/C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/Ar при пониженном давлении ( $P \leq 10^{-3}$  Па). Выяснение закономерности влияния соотношения компонентов газовой смеси на химический состав и стабильность покрытий при выдержке на воздухе и в водных средах при различных значениях pH.

3) Разработка режимов нанесения биоактивного покрытия на поверхность ПКЛ волокон методом магнетронного распыления композиционной мишени состава TiC+10% Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> и проведение комплексного структурно-химического анализа модифицированных волокон ПКЛ-TiCaPCON.

4) Определение биоактивных свойств модифицированных волокон ПКЛ-СООН и ПКЛ-TiCaPCON в среде, моделирующей внутреннюю среду организма (SBF), а также путем оценки активности щелочной фосфатазы *in vitro*.

5) Разработка методов введения гентамицина (ГМ) в состав волокон ПКЛ-СООН (*метод 3*) путем формирования *пептидных и/или ионных связей*. Проведение комплексного структурно-химического анализа поверхности модифицированных волокон ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub>/ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> и изучение кинетики выхода антибиотика.

6) Разработка метода формирования наночастиц серебра в составе волокон ПКЛ-TiCaPCON методом ионной имплантации. Проведение комплексного структурно-

химического анализа полученных композитных волокон ПКЛ-TiCaPCON-Ag и изучение кинетики выхода ионов серебра. Моделирование распределения серебра в составе материала с использованием программного пакета SRIM-2013 (метод Монте-Карло)

7) Разработка технологии получения композитных волокон ПКЛ с наночастицами  $\text{Ag}_2\text{O}$  и  $\text{ZnO}$ , иммобилизованными на поверхности  $\text{COOH}$ -покрытия за счет электростатических взаимодействий. Проведение комплексного структурно-химического анализа полученных композитных волокон и изучение кинетики выхода бактерицидных ионов.

8) Изготовление макетных образцов и проведение биологических испытаний *in vitro*; оценка антибактериальной активности, биосовместимости, биоактивности. Анализ полученных результатов и установление связи биологических свойств с разработанными способами модификации поверхности.

#### **Научная новизна результатов исследования:**

1) Впервые установлены закономерности влияния скорости потоков и состава смеси  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4/\text{Ar}$  на химический состав плазменно-осаждаемого карбоксилсодержащего полимерного покрытия. Показано, что увеличение доли  $\text{CO}_2$  в газовой смеси приводит к росту содержания активных карбоксильных групп в составе осаждаемого покрытия, при этом общее количество сложноэфирных и карбоксильных групп достигает насыщения при соотношении  $R = 0.39$  (где  $R$  рассчитывается по соотношению скорости потоков ( $Q$ ) реакционных газов:  $R = Q(\text{CO}_2) / [Q(\text{CO}_2) + Q(\text{C}_2\text{H}_4)]$ ). Установлено, что плазменно-осажденный полимер стабилен в нейтральной среде и деградирует в кислой и щелочной средах.

2) Впервые получены и исследованы композитные материалы на основе поли-ε-капролактоновых волокон с покрытием TiCaPCON и имплантированные ионами серебра (ПКЛ-TiCaPCON-Ag), предназначенные для применения в костной тканевой инженерии. Определена оптимальная концентрация ионов Ag, обеспечивающая эффективный локальный антибактериальный эффект без снижения биосовместимости материала.

3) Методами ИК-спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) экспериментально подтверждено образование кальцийсодержащих фаз на поверхности модифицированных волокон ПКЛ- $\text{COOH}$  и ПКЛ-TiCaPCON после выдержки в растворе, имитирующем биологическую среду организма (SBF). Полученные данные свидетельствуют о проявлении биоактивных свойств разработанных материалов *in vitro*.

4) Разработаны нанокompозитные покрытия с высокой антипатогенной активностью за счет формирования иммобилизованных наночастиц  $\text{Ag}_2\text{O}$  на поверхности волокон ПКЛ с плазменно-осажденным карбоксилсодержащим полимером. Полученные волокна проявляют контролируемое высвобождение ионов серебра и могут быть использованы для разработки антибактериальных биоматериалов нового поколения.

#### **Практическая значимость работы:**

1) Разработаны и оптимизированы технологические режимы электроформования наноструктурированных волокнистых материалов из поликапролактона (ПКЛ) с контролируемым диаметром волокон  $260 \pm 60$  нм, что соответствует морфологическим характеристикам внеклеточного матрикса. Полученные материалы перспективны для применения в качестве биоскаффолдов в тканевой инженерии и фильтрации воздушных потоков.

2) Впервые разработаны технологии нанесения биоактивных и антибактериальных покрытий ( $\text{COOH}$ , TiCaPCON, TiCaPCON-Ag) на поверхность термолabileных ПКЛ-волокон методами плазмохимического осаждения и

магнетронного распыления. Режимы обработки зарегистрированы в виде объекта промышленной собственности — ноу-хау №02–457–2020 «Плазменная обработка термочувствительных нановолокнистых скаффолдов» в депозитарии НИТУ «МИСиС» от 20.04.2020.

3) Разработанные покрытия на поверхности ПКЛ-волокон способствуют улучшению взаимодействия с клетками остеобластов и эпителиальных клеток, а также имеют выраженный антимикробный эффект в отношении широкого спектра патогенных микроорганизмов. Наиболее высокой антибактериальной активностью обладают нанокompозитные материалы с электростатически иммобилизованными наночастицами  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{ZnO}$ , что открывает возможность их применения в качестве самоочищающихся фильтрующих элементов для газов медицинского и промышленного назначения.

**Достоверность полученных результатов** диссертационной работы подтверждается использованием современного сертифицированного научно-исследовательского оборудования с применением специализированного программного обеспечения и аттестованных методик исследований согласно межгосударственным стандартам, сопоставлением значительного количества теоретических и экспериментальных данных между собой, а также с опубликованными результатами других авторов в научных журналах.

#### **Личный вклад автора:**

На всех этапах выполнения диссертационной работы автор принимал непосредственное участие в постановке задач исследований, в планировании и методическом обеспечении экспериментов, в проведении большинства экспериментальных измерений и теоретических расчетов, в анализе полученных результатов и формулировании выводов.

#### **Публикации:**

Основные результаты диссертации опубликованы в 15 публикациях, в том числе в 7 статьях, опубликованных в журналах из перечня, рекомендованного ВАК и/или индексируемых WoS/Scopus, в 7 тезисах и материалах докладов научных конференций, в 1 ноу-хау, зарегистрированном в Депозитарии ОИС НИТУ МИСИС «Плазменная обработка термочувствительных нановолокнистых скаффолдов» под №02–457–2020 от 20.04.2020г.

#### **Апробация работы:**

Основные результаты исследований докладывались на следующих российских и международных конференциях: «Биогибридные системы в химии, биотехнологии и медицине» (22-23 апреля 2024 г., Тула, РФ), Materials of the 5th Int'l Conference on Nanochemistry (ICN 2024) (19-21 April 2024, Xiamen, China), XXVI Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием), (18-20 апреля, 2023 Нижний Новгород), British Council Researcher Links Workshop "Patient-tailored biomaterials for tissue regeneration, combating microbial contamination and drug delivery" (October 2-4, 2019, Lancaster, UK), International Conference on Advances in Tissue Engineering and Biomaterials Science, (June 6-9, 2019, London, UK), 61st Annual Technical Conference TechCon (May 5-10, 2018, Orlando, FL, USA), XIV Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов», (17-20 октября, 2017, Москва, РФ).

#### **Структура и объём работы:**

Диссертация состоит из введения, 4 глав, общих выводов, списка цитируемой литературы из 245 наименований и 7 приложений. Работа изложена на 151 страницах машинописного текста и содержит 50 рисунков, 24 таблицы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** описана актуальность проблемы, сформулированы основные задачи, обоснована научная новизна работы и практическая значимость.

**В первой главе** представлен аналитический обзор литературы. В первой части обзора приведены данные о современных достижениях в области применения субмикронных ПКЛ волокон и нанокомпозитов на их основе для медицинских применений в области тканевой инженерии, системы доставки лекарств и разработки высокоэффективных самоочищающихся фильтров. Было показано преимущество метода электроформования для получения нано- и субмикронных волокон относительно других подходов, а именно масштабируемость и контролируемость процесса. Для повышения их эффективности в большинстве рассматриваемых приложений необходимо придать им антибактериальные и биоактивные характеристики. Во второй части обзора рассмотрены основные способы модификации поверхности полимерных волокон с целью повышения их биоактивности и придания антибактериальных свойств. Основное внимание было уделено методам обработки с использованием низкотемпературной плазмы, а также получению биоактивных покрытий при магнетронном распылении мишеней. Были рассмотрены преимущества плазменной полимеризации в сравнение с плазменным травлением поверхности.

**Во второй главе** описаны характеристики исходных материалов (реактивов, газов, мишеней-катодов), приведены режимы получения ПКЛ волокон и нанесения покрытий методами плазмохимической полимеризации и магнетронного распыления. Покрытия осаждались на два типа материалов: 1) полированные кремниевые пластины (Si (111)) для оценки химического состава и толщины осаждаемых слоев и 2) поликапролактоновые (ПКЛ) волокна, полученные методом электроформования. Оптимизация режима получения субмикронных волокон ПКЛ проводилась методом электроформования на установке Super-ES2 (Индия) при варьировании концентрации полимера ПКЛ, рабочего напряжения и скорости подачи полимера.

Поверхностную модификацию материалов для повышения биоактивных свойств проводили двумя альтернативными методами. Первый подход заключался в осаждении карбоксилсодержащих полимерных покрытий методом плазменной полимеризации смеси газов  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$  в ВЧ-плазме низкого давления в атмосфере аргона. Осаждение полимеров из плазмы проводилось с использованием вакуумной системы УВН-2М, оснащенной источником питания Cito 1310-ACNA-N37A-FF (Comet), дисковым генератором RFPG-128 (Beams & Plasmas). Мощность ВЧ излучения была 500 Вт, расстояние между ВЧ антенной и подложкой (кремниевые пластины, субмикронные волокна ПКЛ) составляло 8 см. Варьируемыми параметрами были рабочий цикл, а также скорость подачи и соотношение реакционных газов  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$ . Время осаждения полимера на кремниевые подложки составляло 15 мин, на субмикронные волокна была проведена оптимизация времени осаждения с целью минимизации деструкции материала. Второй подход заключался в осаждении наноструктурированных покрытий TiCaPCON методом магнетронного распыления. В качестве распыляемой мишени для формирования базового покрытия TiCaPCON использовалась композиционная СВС-мишень состава  $\text{TiC}+10\%\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Эксперименты по осаждению проводились на установке «UNICOAT 900». Расстояние между магнетроном и подложкой (кремниевые пластины, субмикронные ПКЛ волокна) было установлено на 200 мм (максимально возможное при данной конфигурации установки), ток магнетрона уменьшали с 2,5 до 1,5 А, и время осаждения было установлено равным 10 мин, чтобы избежать перегрева подложки. Расход Ar и  $\text{N}_2$  был установлен равным 250 и 25  $\text{см}^3/\text{мин}$ , соответственно.

Структуру и состав поверхности модифицированных материалов исследовали методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС), сканирующей электронной микроскопией (СЭМ), ИК-спектроскопии и энергодисперсионной

рентгеновской спектроскопии (ЭДРС). Шероховатость поверхности покрытий исследовали методом оптической профилометрии. Смачиваемость покрытий была оценена методом «лежащей капли» на установке для определения краевого угла смачивания Easy Drop Kruss (KRÜSS, Германия).

Была проведена оценка биоактивности полученных покрытий на поверхности субмикронных волокон двумя подходами. Первый подход заключался в погружении немодифицированных образцов и образцов с покрытиями в раствор, моделирующий внутреннюю среду организма. После выдержки в растворе в течение 1, 3, 7 и 14 дней анализировали изменения в морфологии и химическом составе образцов. Второй подход заключался в оценке активности щелочной фосфатазы (АЩФ) после культивирования остеобластных клеток на поверхности тестируемых образцов с покрытиями и без. АЩФ является ранним маркером остеогенной дифференцировки клеток. АЩФ оценивали по концентрации р-нитрофенола, освобождающегося в результате реакции в единицу времени на миллиграмм клеточного белка. Биосовместимость материалов была оценена за счет анализа адгезии и пролиферации эпителиальных (IAR-2)/остеобластных (МС3Т3-E1) клеток.

Для придания материалам (ПКЛ-СООН, ПКЛ-TiCaPCON) антибактериальных свойств было разработано две стратегии. Первая стратегия заключалась в ковалентном/электростатическом присоединении аминокислотных терапевтических агентов (на примере антибиотика гентамицина) на поверхность карбоксимодифицированных волокон (ПКЛ-СООН). Для ковалентного введения антибиотика гентамицина (ГМ) на поверхность ПКЛ-СООН были использованы методы карбодиимидной химии: образцы ПКЛ-СООН погружали в раствор дициклогексилкарбодиимида (ДЦК) в смеси вода: диметилсульфоксид на 30 мин с последующей промывкой образцов и выдержке в растворе антибиотика. Для электростатического присоединения антибиотика ПКЛ-СООН погружали в раствор ГМ. Вторая стратегия заключалась в получении нанокомпозитных материалов на основе ПКЛ-TiCaPCON и ПКЛ-СООН несколькими методами. Первый подход заключался в ионной имплантации серебра в состав ПКЛ-TiCaPCON с использованием кольцевого ионного имплантера за счет одновременного распыления композиционной мишени и мишени серебра в течение 2, 3 и 5 мин. После чего выключали источник магнетронного распыления и проводили ионную имплантацию серебра в поверхность ранее сформированного покрытия в течение 2, 10 и 15 мин. Во втором подходе проводили электростатическую сорбцию частиц на поверхности ПКЛ-СООН за счет формирования наночастиц  $\text{Ag}_2\text{O}$  при выдержке в растворе нитрата серебра с последующим восстановлением под действием УФ-излучения или иммобилизации предварительно синтезированных частиц  $\text{ZnO}$ .

Кинетику выхода ионов металлов ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) из состава нанокомпозитных материалов изучали методом масс-спектропии с индуктивно-связанной плазмой на установке "X-Series II" Thermo Scientific, США. Кинетику высвобождения антибиотика ГМ изучали с помощью УФ-спектрофотометра (Ocean Optics, США). Антибактериальная активность антибактериальных ПКЛ волокон была изучена относительно грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также штаммов грибов.

**В третьей главе** приведены результаты по оптимизации режима получения субмикронных ПКЛ волокон, а также анализа структуры, химического состава, механических характеристик, биоактивности и биосовместимости волокон ПКЛ и волокон ПКЛ с покрытиями (ПКЛ-СООН, ПКЛ-TiCaPCON).

Было исследовано влияние концентрации раствора поликапролактона (10–25 %), прикладываемого напряжения (20–50 кВ) и скорости подачи полимера (0.9–0.1 мкл/сек) в процессе электроформования на морфологию получаемых ультратонких волокон. При

фиксированном напряжении 50 кВ и скорости подачи 0.1 мкл/сек было показано, что при концентрации формируемых растворов в 10 % поверхность получаемых материалов содержит большое количество капельных структур, при массовых концентрациях 15 % и 20 % получаемые материалы содержат бусинки и бисерные волокна, что, вероятно, обусловлено низкой вязкостью раствора и нестабильностью струи в процессе электроформования. При концентрации 25 % образуется однородное волокно без бисерных структур и капельных включений (Рисунок 1а-г). При варьировании напряжения в диапазоне от 20 до 50 кВ (Рисунок 1 д-з, Рисунок 2 верхний ряд) наблюдали не только улучшение однородности распределения диаметра нановолокон, но и снижение капельной фазы. Увеличение скорости потока приводит к увеличению диаметра волокна (Рисунок 1и-л, Рисунок 2 нижний ряд) и обрыванию волокна, это можно объяснить тем, что из-за большого потока раствор не успевает высохнуть и сформировать цельное волокно. С понижением скорости потока улучшается устойчивость заряженной струи волокна, что приводит к формированию однородных и бездефектных не тканых матриц. Таким образом были подобраны оптимальные параметры получения субмикронных волокон: концентрация 25 %, напряжение 50 кВ, скорость потока 0.1 мкл/сек.

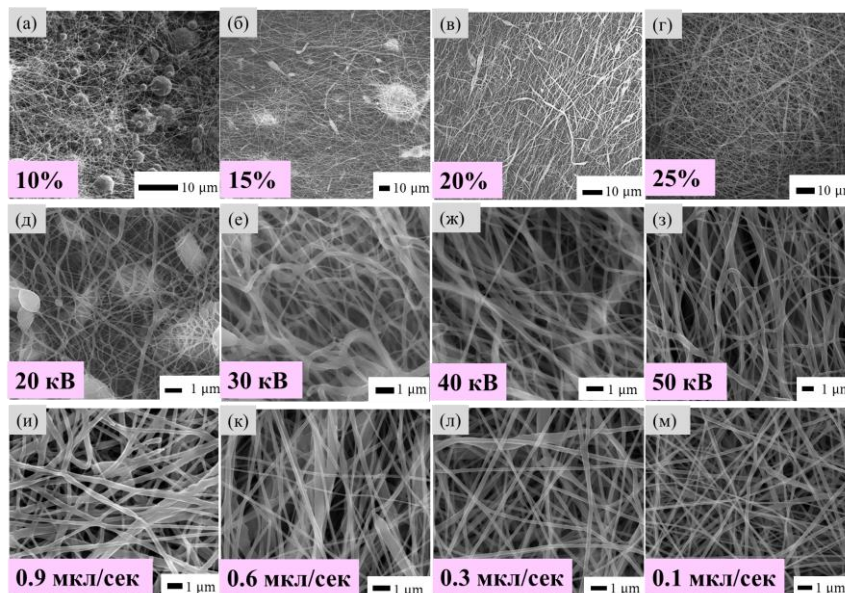


Рисунок 1 – СЭМ-изображения субмикронных волокон (ПКЛ), полученных из растворов поликапролактона с различной концентрацией. Концентрация полимера, рабочее напряжение и скорость потока указаны на изображениях

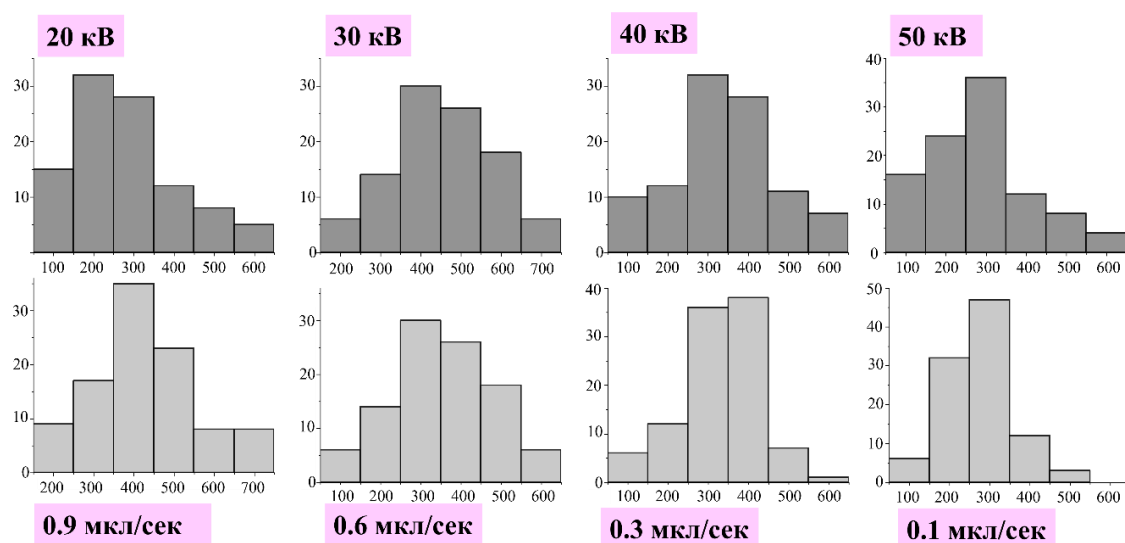


Рисунок 2 – влияние напряжения (верхний ряд) и скорости подачи полимерного раствора (нижний ряд) на распределение диаметра получаемых субмикронных волокон

Для оптимизации химического состава плазменно-осажденных полимерных покрытий, получаемых из реакционной смеси газов  $\text{Ar}/\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$ , варьировали соотношение потоков реакционных газов и рабочий цикл. Осаждение проводили на поверхность кремниевых пластин. Импульсное плазменное осаждение тонких полимерных покрытий из смеси газов  $\text{Ar}/\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$  привело к образованию однородных слоев без точечных дефектов, трещин или других повреждений с высокой адгезией к поверхности при всех используемых параметрах осаждения. (Таблица 1, Рисунок 3). Толщина плазменно-осажденных слоев оценивалась профилометрически, на некоторых режимах толщина слоя также оценивалась методом СЭМ (Рисунок 3в).

Таблица 1 – Толщина плазменно-осажденного полимера и содержание групп  $\text{C}(\text{O})\text{O}$  и  $\text{COOH}$  на поверхности в зависимости от режима осаждения, где  $R = \text{QCO}_2 / (\text{QC}_2\text{H}_4 + \text{QCO}_2)$

| $\text{QCO}_2$ ,<br>$\text{см}^3/\text{мин}$ | $\text{QC}_2\text{H}_4$ ,<br>$\text{см}^3/\text{мин}$ | $\text{Q Ar}$ ,<br>$\text{см}^3/\text{мин}$ | R     | РЦ | P, Па | $[\text{C}(\text{O})\text{O}]$ ,<br>атомная<br>доля, % | $[\text{COOH}]$ ,<br>атомная<br>доля, % | Толщина, нм |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------|----|-------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------|
| 2.5                                          | 16                                                    | 50                                          | 0.135 | 5  | 3.5   | 1.7                                                    | 0.13                                    | 186         |
| 8.6                                          | 16                                                    | 50                                          | 0.350 | 5  | 4.0   | 8.0                                                    | 0.25                                    | 107         |
| 10.3                                         | 16                                                    | 50                                          | 0.391 | 5  | 4.0   | 9.7                                                    | 0.33                                    | 75          |
| 16.2                                         | 6.2                                                   | 50                                          | 0.723 | 5  | 3.8   | 11.3                                                   | 0.57                                    | 37          |
| 16.2                                         | 3.1                                                   | 50                                          | 0.839 | 5  | 3.6   | 12.6                                                   | 0.77                                    | 41          |
| 10.3                                         | 16                                                    | 50                                          | 0.391 | 15 | 4.1   | 9.4                                                    | 0.30                                    | 105         |
| 10.3                                         | 16                                                    | 50                                          | 0.391 | 33 | 4.3   | 4.3                                                    | 0.10                                    | 177         |

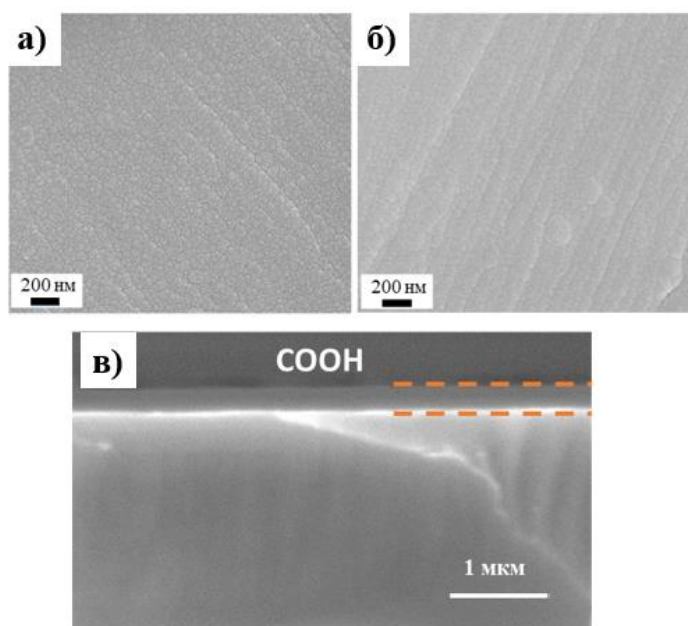


Рисунок 3 – Микрофотографии СЭМ  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$  плазменно-осажденных полимерных покрытий, осажденных при  $R=0.391$  (а), и после выдержки в воде в течение 24 ч (б).

Толщина плазменно-осажденного полимерного слоя на режиме  $R=0.839$  (в)

По результатам анализа ИК-спектров, полученные полимерные покрытия имеют признаки углеводов (наличие пиков  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$  и  $-\text{C}-\text{H}$ , соответствующих волновым числам 2978, 2937 и  $2884\text{ см}^{-1}$ ), карбоксильных/сложноэфирных групп (растяжение пика  $\text{C}(\text{O})$  при  $1730\text{ см}^{-1}$ ) и гидроксильных групп ( $-\text{OH}$ , широкий пик в значениях волнового числа  $3000\text{--}3700\text{ см}^{-1}$ , с максимумом  $\sim 3300\text{ см}^{-1}$ ) (Рисунок 4а). Сравнение ИК-спектров плазменно-осажденных полимерных покрытий до и после выдержки на воздухе в течение месяца не выявило изменений в химическом составе полимерного слоя. Погружение плазменно-осажденных полимерных покрытий  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$  в воду на 3 часа не привело к деградации слоя. Однако погружение слоев на 24 часа привело к образованию нового пика при  $1590\text{ см}^{-1}$ , который можно отнести к карбоксилатам. Погружение на 7 дней не привело к каким-либо значительным изменениям в ИК спектрах по сравнению с результатами, полученными на образцах после погружения только на 1 день.

Методом РФЭС был изучен химический состав осаждаемого полимера. Все осажденные полимерные покрытия состояли из углерода и кислорода в разных соотношениях. РФЭС спектр высокого разрешения  $\text{C}1\text{s}$  был разложен на четыре компоненты: углеводороды  $\text{CH}_x$  (с энергией связи (ЭС)  $285,0\text{ эВ}$ ), карбонильная  $\text{C}=\text{O}$  (ЭС =  $287,80 \pm 0,05\text{ эВ}$ ), эфирная  $\text{C}-\text{O}$  (ЭС =  $286,55 \pm 0,05\text{ эВ}$ ), и, наконец, сложноэфирная или карбоксильная группы  $\text{C}(\text{O})\text{O}$  (ЭС =  $289,00 \pm 0,03\text{ эВ}$ ). Для определения количества карбоксильных групп проводили химическую дериватизацию трифторэтанолом (ТФЭ). Реакция между карбоксильными группами ( $\text{COOH}$ ) плазменно-осажденного полимера и гидроксильными группами ( $\text{OH}$ ) ТФЭ приводит к включению фтора в плазменно-осажденный полимерный слой, и концентрация фтора  $[\text{F}]$  в составе покрытия зависит от  $[\text{COOH}]$  согласно Уравнению 1. Результаты приведены в Таблице 1.

$$[\text{COOH}] = ([\text{F}]) / (3[\text{C}] - 2[\text{F}]) \times [\text{C}] \quad (1)$$

Кроме того, реакция между плазменно-осажденным полимером и ТФЭ приводит к включению нового типа углерода, а именно углерода с тремя связями к фтору ( $\text{CF}_3$ ). Соответствующий углеродный пик расположен при 292,8 эВ, как показано на спектре РФЭС  $\text{C1s}$  дериватизированного плазменно-осажденного полимерного покрытия из смеси газов  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4/\text{Ar}$  (Рисунок 4б).

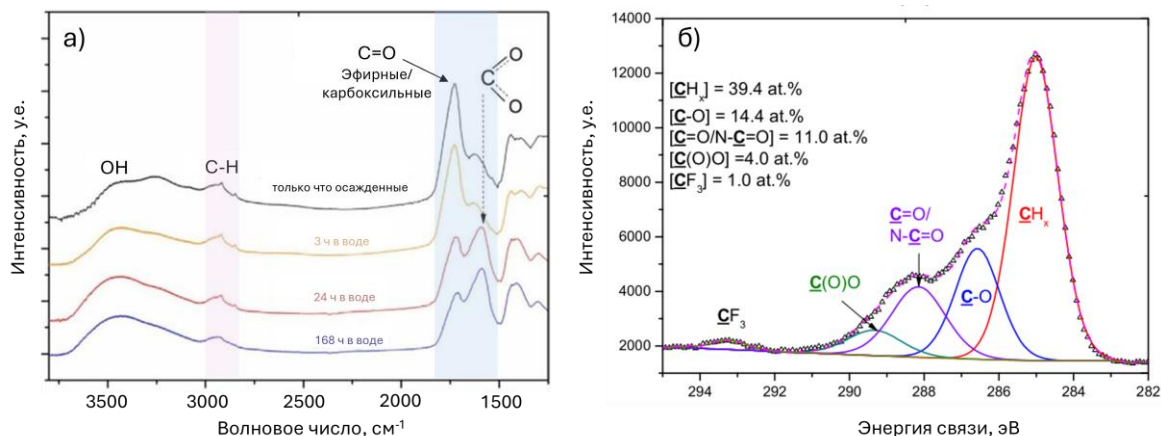


Рисунок 4 – (а) ИК-спектры образцов после осаждения ( $R=0.839$ ) и последующей выдержки в воде в течение 3, 24, 168 ч в воде; (б) спектр высокого разрешения  $\text{C1s}$ , полученный методом РФЭС, плазменно-осажденного полимерного покрытия ( $R=0.839$ ) после выдержки в воде в течение 24 ч и химической дериватизации ТФЭ

Также были изучены составы осаждаемых покрытий в зависимости от соотношения потоков реакционных газов  $R$  ( $R = \text{QCO}_2 / (\text{QCO}_2 + \text{QC}_2\text{H}_4)$ ) методами ИК-спектроскопии и РФЭС анализа. Для изучения состава плазменно-осажденного полимерного покрытия методом ИК-спектроскопии, вводили параметр  $I_{\text{C=O}}/I_{\text{CH}}$ , который рассчитывался как соотношение общей площади под пиками  $\text{CO}$ , расположенными в диапазоне волновых чисел  $1520 - 1800 \text{ см}^{-1}$ , к площади пиков углеводородных групп, расположенных при  $2800 - 3050 \text{ см}^{-1}$ , и строили зависимость этого параметра от соотношения скорости потоков газов  $R$  (Рисунок 5а).

При анализе состава покрытий методом РФЭС также строили график зависимостей атомных концентраций  $[\text{O}]/[\text{C}]$  от  $R$  (Рисунок 5б). Полученные зависимости имеют хорошую сходимость для обоих методов: видно, что в диапазоне значений  $R$  от 0,135 до 0,391, величина отношения  $I_{\text{C=O}}/I_{\text{CH}}$  и  $[\text{O}]/[\text{C}]$  увеличивалась и далее сохранялась практически на одном уровне. Следовательно, концентрация химических групп, содержащих карбонильную функцию ( $\text{CO}$ ), увеличивалась с увеличением концентрации потока газа  $\text{CO}_2$  только в узком диапазоне  $R$ .

Было показано, что концентрации карбоксильных/сложноэфирных групп снижались с увеличением рабочего цикла (РЦ). Включение  $\text{COOH}$  группы в плазме  $\text{CO}_2$  происходит через присоединение  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^\bullet$  радикала к углеводородной цепи с последующей рекомбинацией  $-\text{C}(\text{O})\text{O}^\bullet$  с атомом водорода. Была установлена зависимость концентрации сложноэфирных групп от скорости потока газа  $\text{CO}_2$  в реакционной смеси (Рисунок 5б) и наблюдался выход на плато (достижение максимальной концентрации сложноэфирных групп) после увеличения соотношения  $R = \text{QCO}_2 / (\text{QC}_2\text{H}_4 + \text{QCO}_2)$  более чем 0.39 (Рисунок 5в).

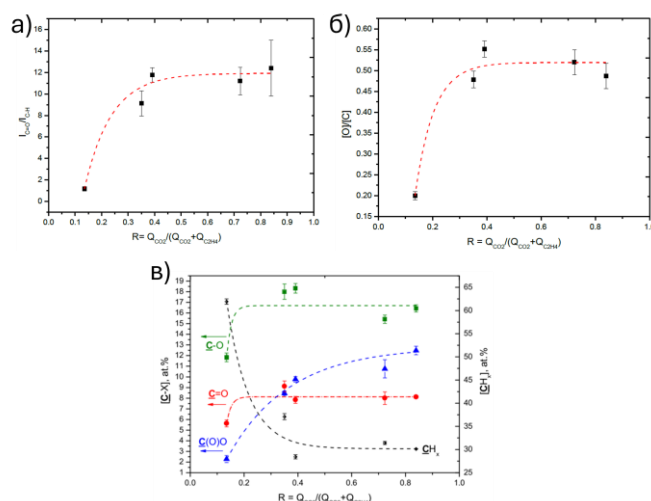


Рисунок 5 – а) зависимость величины  $I_{C=O}/I_{CH}$  от соотношения скоростей потоков газа  $R$ . Отношение  $I_{C=O}/I_{CH}$  рассчитывали, как общую площадь под пиками  $C=O$ , деленную на общую площадь, занятую пиками  $CH_x$ , б) Соотношение атомных концентраций  $O/C$  как функция от соотношения газов  $R$ , в) изменение углеродных состояний как функция от соотношения газов  $R$

Было показано, что эфирные группы гидролизуются в воде, что приводит к частичному растворению слоя. При этом гидролиз сложноэфирных групп ускоряется при изменениях pH в кислую и щелочную сторону (Рисунок 6а), что может быть использовано для контролируемого высвобождения лекарственного средства и других медицинских применений.

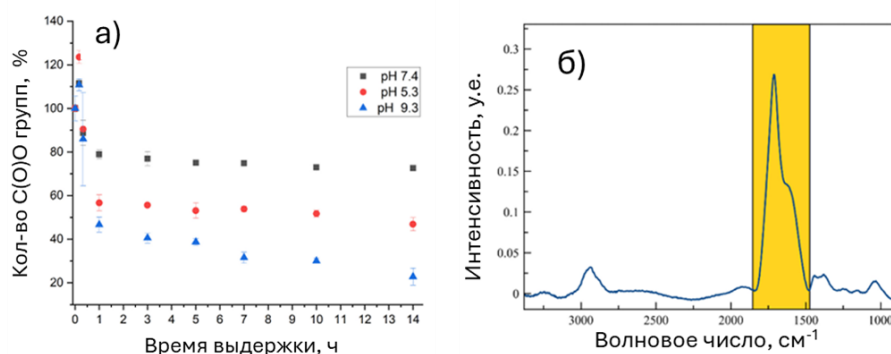


Рисунок 6 – Оценка стабильности сложноэфирных групп при изменении pH (а), полученная при анализе ИК-спектров при значениях волнового числа в диапазоне 1500-1800  $cm^{-1}$  (б)

Особенностью волокон из поликапролактона является низкая температура плавления полимера ( $T_{пл}=62-64$  °C). Таким образом, для подбора режима осаждения полимерных покрытий из смеси газов  $CO_2/C_2H_4/Ar$  на поверхность термочувствительных ПКЛ волокон образцы располагали на расстоянии 8 см и обрабатывали в течение 3, 5, 10 мин.

Для определения степени дефектности был проведен морфометрический анализ площади дефектов к общей площади с помощью программы Image J (NIH, США) для 9 микрофотографий при каждом режиме (Таблица 2). Таким образом было установлено оптимальное время обработки в течение 3 мин, не приводящее к деструкции материала.

Таблица 2 Степень дефектности ПКЛ скаффолдов после плазменной обработки

| Время обработки, мин | Толщина слоя, нм | Степень дефектности, % | $I_{C=O}/I_{CH}$ |
|----------------------|------------------|------------------------|------------------|
| 3                    | 30               | 0                      | 12:1             |
| 5                    | 41               | 15                     | 11:1             |
| 10                   | 56               | 60                     | 12:1             |

Второй подход для придания нановолокнам ПКЛ биоактивных характеристик заключался в осаждении многокомпонентного покрытия при магнетронном распылении мишени  $TiC+10\% Ca_3(PO_4)_2$  (метод 2). Поскольку поликапролактон обладает низкой температурой плавления, образцы ультратонких волокон были размещены на наиболее удаленном расстоянии (200 мм) и ток магнетрона при распылении композиционной мишени варьировали от 1.5 А до 2.5 А.

На Рисунке 7 представлены микрофотографии СЭМ для немодифицированных нановолокон и нановолокон, покрытых биоактивным слоем  $TiCaPCON$ . Осаждение с током магнетрона 2,5 А (ПКЛ- $TiCaPCON$ -2.5А, Рисунок 7б) привело к серьезным повреждениям структуры нановолокна по сравнению с немодифицированным аналогом (ПКЛ). Осаждение покрытий  $TiCaPCON$  при режимах с токами 2 и 1,5 А (Рисунок 7 в,г) не повлияло на структуру нановолокон.

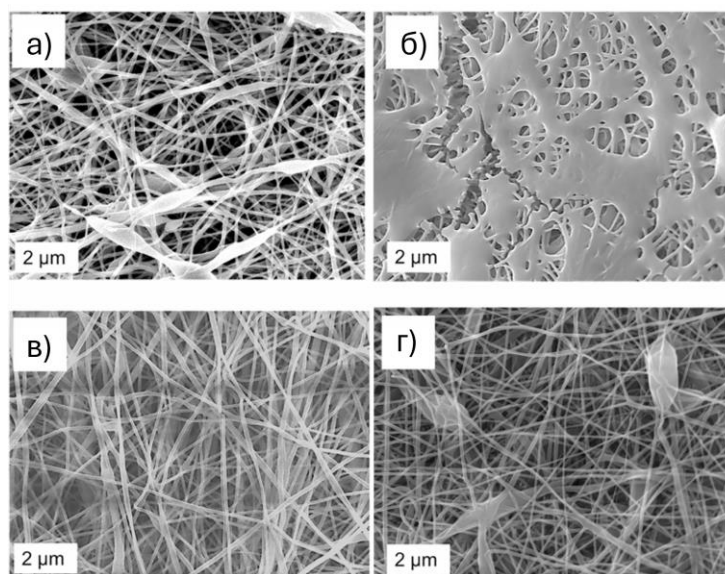


Рисунок 7 – СЭМ-микрофотографии образцов ПКЛ (а), ПКЛ- $TiCaPCON$ -2.5А (б), ПКЛ- $TiCaPCON$ -2А (в) и ПКЛ- $TiCaPCON$ -1.5А (г)

РФЭС анализ ПКЛ скаффолдов с покрытием  $TiCaPCON$  на разных режимах показал, что произошли существенные изменения в химическом составе их поверхности по сравнению с немодифицированными волокнами. При более низком токе магнетрона 1,5 А присутствие элементов  $Ti$  и  $Ca$  не было обнаружено. Образец ПКЛ-  $TiCaPCON$ - 2А показал высокую концентрацию  $Ti$  (8,4 атомные доли, %) и  $N$  (8,6 атомные доли, %), а также около 1,1% атомной доли,  $Ca$  (Таблица 3). Таким образом, пленки  $TiCaPCON$  были успешно нанесены на термочувствительные волокна из биоразлагаемого поликапролактона (ПКЛ) с использованием магнетронного распыления композитной мишени  $TiC+10\%Ca_3(PO_4)_2$ , что было подтверждено методом РФЭС.

Таблица 3 – Атомный состав образцов, определенный методом РФЭС

| Образец          | Ток, А | Атомная доля, % |      |      |      |     |     |
|------------------|--------|-----------------|------|------|------|-----|-----|
|                  |        | [C]             | [O]  | [Ti] | [Ca] | [P] | [N] |
| ПКЛ              | -      | 73.9            | 26.1 | 0    | 0    | 0   | 0   |
| ПКЛ-TiCaPCON-1.5 | 1.5    | 67.9            | 29.8 | 0    | 0    | 2.3 | 0   |
| ПКЛ-TiCaPCON-2.0 | 2.0    | 55.4            | 26.5 | 8.4  | 1.1  | 0   | 8.6 |
| ПКЛ-TiCaPCON-2.5 | 2.5    | 55.7            | 33.2 | 9.8  | 0.5  | 0   | 0.8 |
| Si-TiCaPCON-2.0  | 2.0    | 58.4            | 22.0 | 9.7  | 1.3  | 0   | 8.7 |

Была проведена оценка изменения краевого угла смачивания волокон ПКЛ после нанесения покрытий (ПКЛ-СООН и ПКЛ-TiCaPCON) (Рисунок 8). Было установлено, что осаждение покрытий существенно повышает гидрофильность материала, что может способствовать лучшей адгезии клеток с поверхностью.



Рисунок 8 – Краевой угол смачивания исходных волокон ПКЛ, а также волокон ПКЛ с покрытиями

Биологическую активность материала оценивали в лабораторных условиях *in vitro*. Погружение биоматериалов в раствор, моделирующий внутреннюю среду организма, с концентрацией ионов, близкой к их концентрации в плазме крови человека, и дальнейшее изучение механизмов и кинетики образования костного апатита - широко используемый метод. На Рисунке 9 представлена микроструктура образцов ПКЛ и ПКЛ с покрытиями до и после выдержки в среде SBF.

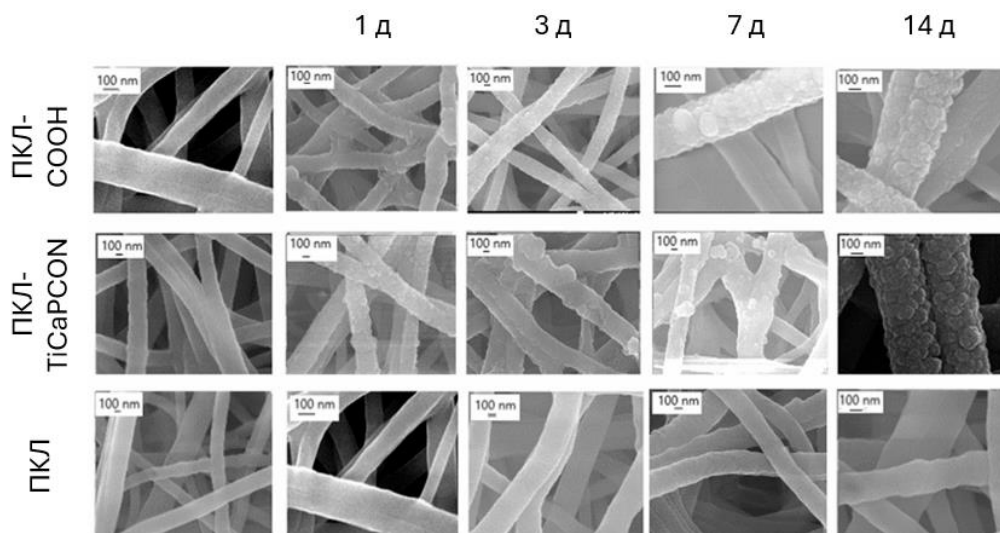


Рисунок 9 – СЭМ изображения волокон ПКЛ, ПКЛ – СООН и ПКЛ – TiCaPCON до (левый столбец) и после минерализации в течение 1, 3, 7 и 14 дней

Было показано, что обработка минерализующей средой через 24 ч приводит к появлению сферических частиц диаметром 50 – 100 нм на поверхности образцов с покрытием, при этом после 14 дней минерализации размер частиц увеличился в два раза, и они покрыли почти всю поверхность волокон с покрытиями. (Рисунок 9) Химический анализ состава образцов методами РФЭС и ЭДРС, подтвердил, что формирующие частицы состоят из соединений кальция.

Второй подход к оценке биоактивности образцов заключался в оценке способности покрытий поддерживать остеогенную дифференцировку с использованием раннего маркера дифференцировки – щелочной фосфатазы (ЩФ). Проведенные исследования показали, что оба варианта модификации повышают биоактивность ПКЛ волокон и стимулируют остеогенную дифференцировку: активность ЩФ была определена как  $532 \pm 42$ ,  $1005 \pm 34$  и  $1714 \pm 92$  нМ р-нитрофенола /мин/мг белка для ПКЛ, ПКЛ-СООН и ПКЛ-TiCaPCON, соответственно.

Для того чтобы сравнить адгезивность поверхностно-модифицированных нановолокон ПКЛ к различным типам клеток, прикрепление клеток IAR-2 и MC3T3-E1 изучали с помощью флуоресцентной микроскопии (Рисунок 10). Образец ПКЛ и покровное стекло использовали в качестве контролей. Как видно из Рисунка 10в, СООН-модифицированные ПКЛ волокна имеют наибольшую площадь клеток IAR-2 (средняя площадь клеток увеличилась на 35% и 20% по сравнению с ПКЛ и ПКЛ-TiCaPCON). Тесты на пролиферацию IAR-2 не показали статистически значимой разницы между тестируемыми образцами. Таким образом было показано, что образцы с покрытиями являются цитосовместимыми для клеток IAR-2. В случае линии клеток остеобластов MC3T3-E1 разница между образцами становится более заметной. Хотя средняя площадь клеток MC3T3-E1, культивируемых на поверхности волокон с плазменно-осажденным полимерным покрытием, была меньше по сравнению с биоактивным стеклом (Рисунок 10е), организация актинового цитоскелета различалась. Образец ПКЛ показал единичные незрелые сферические клетки и обширные области, не занятые остеобластными клетками.

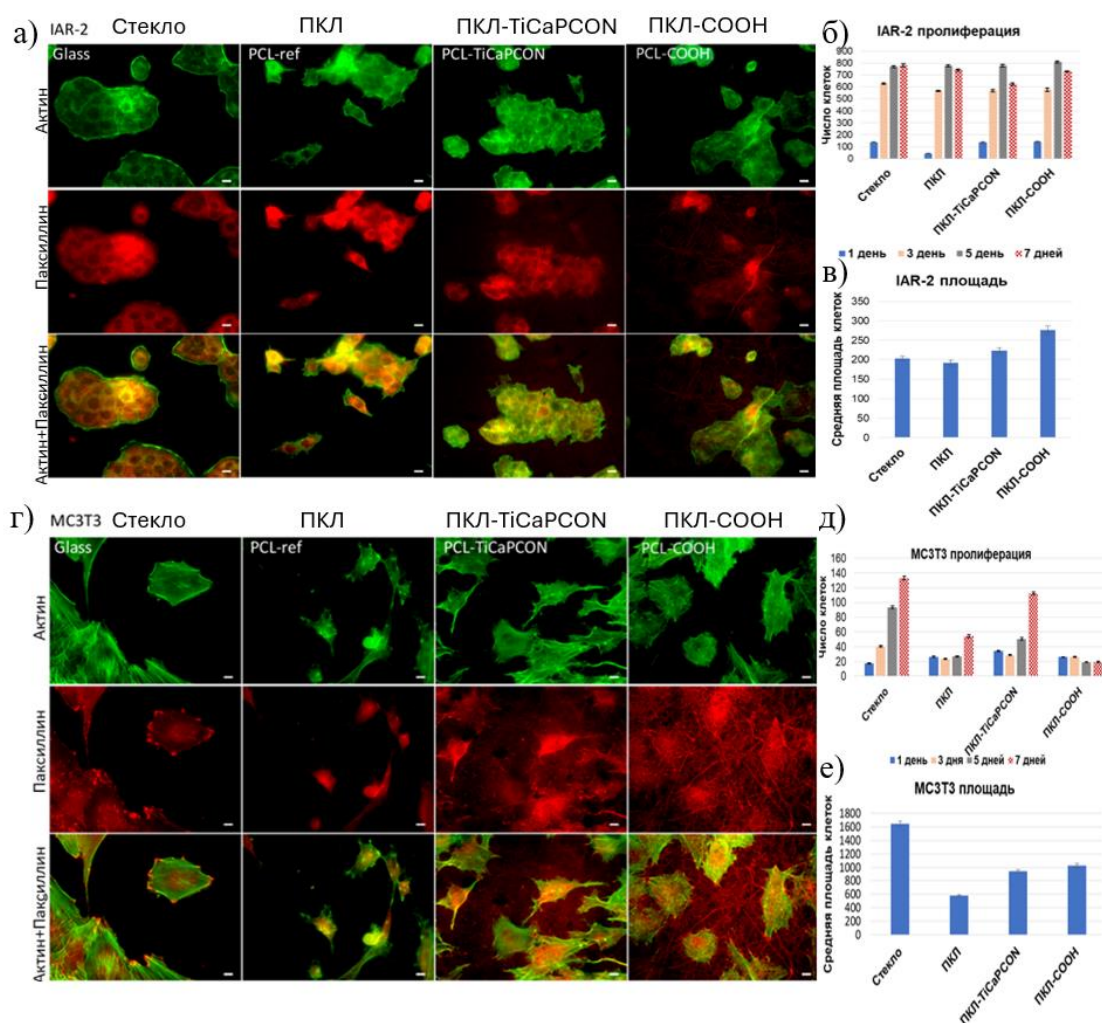


Рисунок 10 – Изображения флуоресцентной микроскопии, показывающие актиновый цитоскелет и фокальные адгезии клеток IAR-2 (а) и MC3T3-E1 (б) на поверхности тестируемых образцов. Окрашивание на актин (зеленый) и паксиллин (красный). Шкала 10 мкм. Пролиферация (б,д) и распластывание (в,е) клеток IAR-2 (б,в) и MC3T3-E1 (д,е) на поверхности тестируемых образцов

В то же время, изображения флуоресцентного микроскопа, представленные на Рисунке 10г, показывают, что клетки MC3T3-E1 хорошо распластываются на поверхности субстратов ПКЛ-СООН и ПКЛ-ТiCaPCON. Это указывает на то, что поверхностная модификация нановолокон путем плазмохимического осаждения полимерного слоя СООН или многокомпонентного ТiCaPCON покрытия повышает адгезивность клеток MC3T3-E1. Пролиферация клеток MC3T3-E1 на поверхности нановолокон ПКЛ и ПКЛ-СООН была ниже по сравнению с контролем (Рисунок 10д). В то же время, высокая пролиферация клеток наблюдалась в случае образца ПКЛ – ТiCaPCON. Через 7 дней количество клеток на поверхностях нановолокон ПКЛ – ТiCaPCON и контроля не было статистически значимым. Подводя итог, отметим, что осаждение плазменного полимерного покрытия с СООН группами на поверхность нановолокон ПКЛ улучшает адгезию клеток IAR-2, что важно для более быстрого заживления мягких тканей, тогда как осаждение покрытия ТiCaPCON способствует лучшей адгезии, распластыванию и пролиферации MC3T3-E1 клеток, что важно для применения в качестве костных наполнителей.

**В четвертой главе** представлены две основные стратегии введения бактерицидного агента в состав разработанных покрытий. Первый подход заключается

в ковалентном/электростатическом присоединении аминоксодержащих органических терапевтических агентов на поверхность карбоксил-модифицированных волокон (ПКЛ-СООН). Второй подход заключался в создании нанокомпозитных материалов, как за счет ионной имплантации наночастиц серебра в состав материала ПКЛ- $\text{TiCaPCON}$ , так и за счет электростатической иммобилизации наночастиц  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{ZnO}$  на поверхности карбоксил-модифицированных волокон ПКЛ (ПКЛ-СООН).

Для изучения первого подхода был выбран модельный антибиотик гентамицин (ГМ) в связи с широким спектром его действия, дешевизной, а также наличием большого количества аминогрупп в структуре. Аминогруппы в составе антибиотика могут быть использованы как для электростатической сорбции на поверхность, так и за счет формирования ковалентных связей с карбоксильными группами плазменно-осажденного полимерного покрытия методами карбодиимидной химии. На Рисунке 12 представлены СЭМ изображения чистых ПКЛ волокон (Рисунок 11а), плазменно-обработанных ПКЛ волокон (Рисунок 11б), а также волокон с антибиотиком гентамицином, присоединенным электростатически (Рисунок 11в) и ковалентно (Рисунок 11г). Результаты анализа не выявили каких-либо существенных изменений в морфологии образцов после иммобилизации гентамицина.

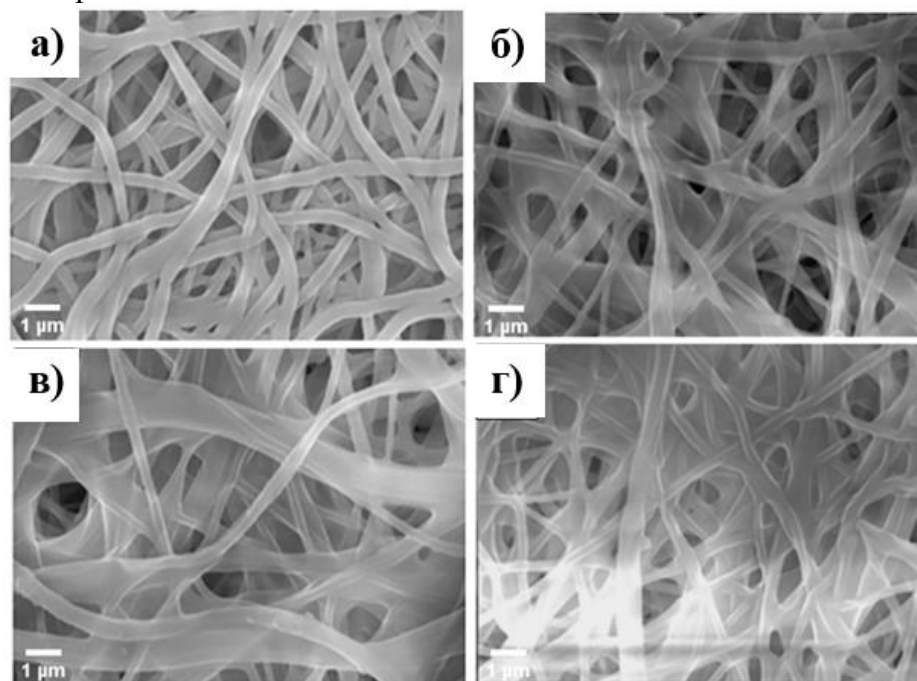


Рисунок 11 – СЭМ-микрофотографии нановолокон из поликапролактона: ПКЛ (а); ПКЛ-СООН (б); ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> (в); и ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> (г). Шкала соответствует 1 мкм

Результаты РФЭС анализа, представленные в Таблице 4, свидетельствуют об отсутствии антибиотика на поверхности образца ПКЛ после его выдержки в растворе гентамицина, поскольку наличие азота в составе образца не обнаружено. Напротив, погружение плазменно-обработанных ПКЛ-СООН в раствор гентамицина приводит к значительному изменению состава поверхности и, как следствие, структуры спектра РФЭС  $\text{C1s}$ . В образцах ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> и ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> содержание азота соответственно составляло 3,2 и 4,6 % атомных долей (Таблица 4). Наличие серы в виде сульфата ( $\text{S2p}$  ЭС = 168,4 эВ) подтвердило, что часть ГМ находится в протонированной форме с сульфатным противоионом. Стоит отметить, что поскольку в составе чистого ГМ (исходя из химической формулы) массовая доля азота составляет 15%, обнаруженное количество азота соответствует покрытию примерно 30 % поверхности гентамицином.

Таблица 4 – РФЭС-анализ атомного состава образцов

| Образцы                   | Описание                                                   | Концентрация, атомная доля, % |     |      |     |
|---------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----|------|-----|
|                           |                                                            | [C]                           | [N] | [O]  | [S] |
| ПКЛ                       | немодифицированные ПКЛ волокна после инкубации с ГМ        | 76,4                          | 0,0 | 23,6 | 0,0 |
| ПКЛ-СООН                  | плазменно-обработанные ПКЛ волокна                         | 72,4                          | 0,0 | 27,6 | 0,0 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub>     | ПКЛ-СООН после инкубации с ДЦК и ГМ                        | 72,2                          | 4,6 | 22   | 1,2 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> -1  | ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> после выдержки в воде в течение 1 ч  | 74,7                          | 2,3 | 22,8 | 0,2 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> -24 | ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> после выдержки в воде в течение 24 ч | 77,7                          | 2,6 | 19,6 | 0,1 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> -48 | ПКЛ-ГМ <sub>ков</sub> после выдержки в воде в течение 48 ч | 75,6                          | 1,7 | 22,5 | 0,2 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub>     | ПКЛ-СООН после инкубации с ГМ                              | 73,9                          | 3,2 | 22,0 | 0,9 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> -1  | ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> после выдержки в воде в течение 1 ч  | 74,9                          | 2,9 | 21,9 | 0,3 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> -24 | ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> после выдержки в воде в течение 24 ч | 74,5                          | 3,0 | 22,3 | 0,2 |
| ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> -48 | ПКЛ-ГМ <sub>ион</sub> после выдержки в воде в течение 48 ч | 77,5                          | 2,4 | 19,9 | 0,2 |

Изучение кинетики выхода антибиотика гентамицина в фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ, pH 7.4) показало, что электростатический способ введения способствует большей загрузке препарата (Рисунок 12а). Несмотря на разную загрузку антибиотика, все образцы демонстрируют высокий выход ГМ в течение 1 дня. В случае электростатического связывания выход препарата существенно замедляется через 1 день. Тогда как ковалентно-связанный ГМ продолжает активно выходить до 72 ч (Рисунок 12а). Также была изучена кинетика выхода ковалентно-связанного гентамицина в зависимости от pH (Рисунок 12б). Было показано, что изменения pH в кислую и щелочную сторону приводит к более высокой скорости высвобождения препарата.

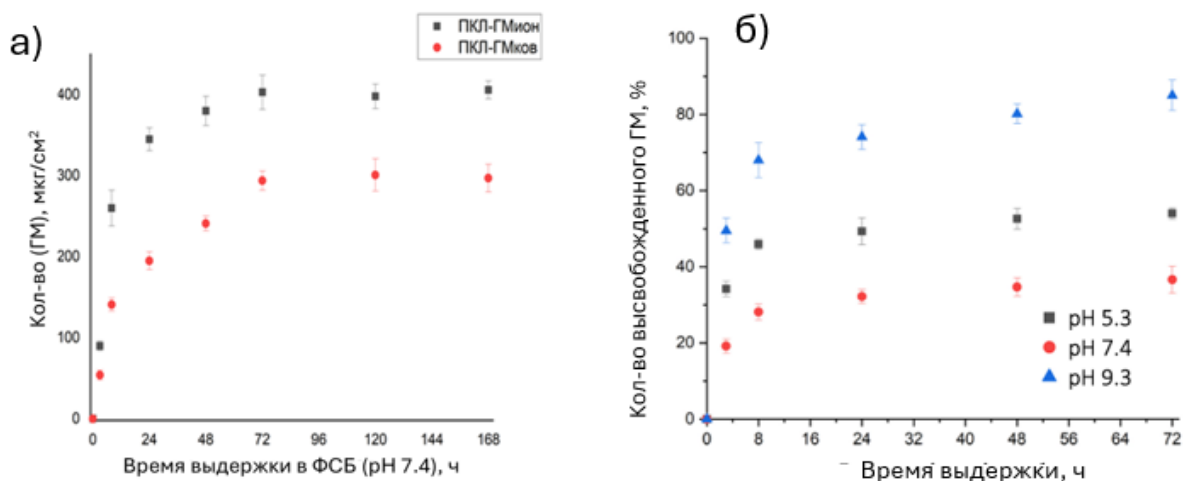


Рисунок 12– скорость высвобождения гентамицина в зависимости от типа связи (а) и pH (б)

Сравнительные исследования адгезии эпителиальных клеток IAR-2 на поверхности ПКЛ и поверхностно-модифицированных ПКЛ-СООН, ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> и ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> были выполнены в качестве первой стадии оценки биосовместимости материалов. Из анализа флуоресцентных изображений становится ясно, что образец ПКЛ был менее адгезивным для эпителиальных клеток IAR-2. Клетки плохо распластывались на поверхности ПКЛ и имели округлую форму (Рисунок 13а). После плазмо-химического осаждения карбоксил-содержащего полимерного покрытия на волокна ПКЛ наблюдалось значительное улучшение распластывания клеток (Рисунок 13б,в,е).

Иммобилизация гентамицина (образцы ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> и ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub>) привела также к улучшению адгезивности клеток (Рисунок 13 г,д,е). Эпителиальные клетки IAR-2 имели гораздо лучше организованную сеть пучков актина и были хорошо распластаны на поверхности образцов. Средняя площадь клеток приведена на Рисунке 12е. Очевидно, плазмохимическое осаждение карбоксил-содержащего полимерного покрытия и иммобилизация гентамицина улучшили прикрепление и распластывание клеток IAR-2. Анализ клеточной пролиферации (Рисунок 13ж) показал, что IAR-2 эпителиальные клетки были способны эффективно размножаться, как на образцах ПКЛ, так и на образцах ПКЛ-СООН. Различия не были статистически значимыми (критерий Крускала-Уоллиса) (Рисунок 13ж). Обнаружено, что ковалентная иммобилизация гентамицина снижает пролиферативный потенциал клеток IAR-2. После инкубации в течение 1, 3 и 5 дней количество клеток на поверхности образца ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> было сходным с количеством клеток на поверхности образца ПКЛ-СООН. При увеличении времени выдержки до 7 дней количество клеток заметно уменьшилось, что указывает на умеренную цитотоксичность. Было отмечено, что нановолокна ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> с иммобилизованным гентамицином посредством ионной связи, то есть без ДЦК, демонстрирует более высокую биосовместимость по сравнению с образцом ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> (Рисунок 13ж).

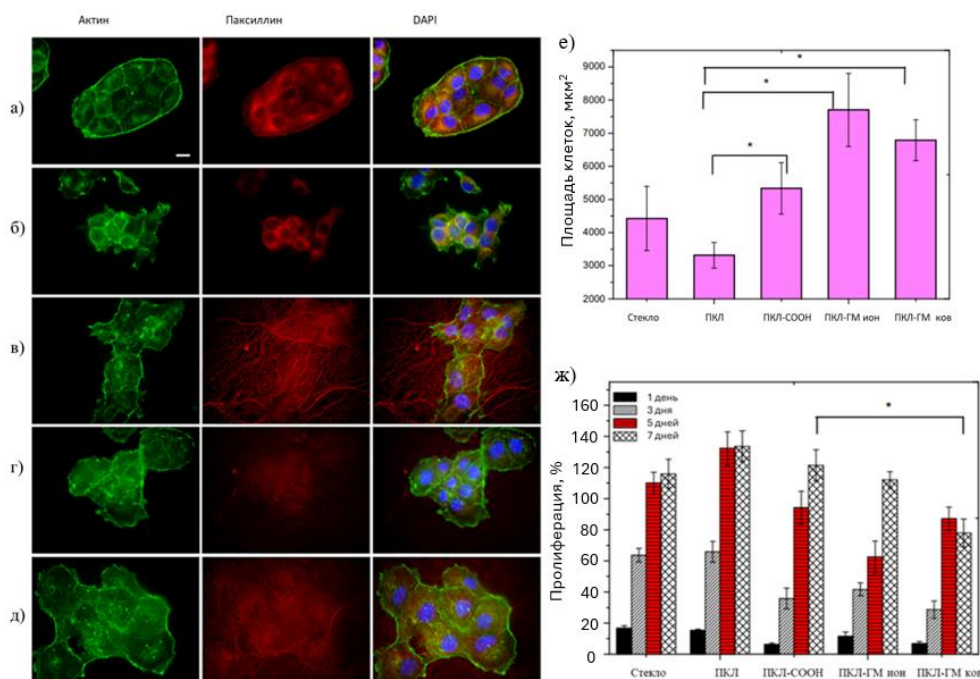


Рисунок 13 – Изображения флуоресцентной микроскопии клеток IAR-2 на поверхности тестируемых образцов. Покровное стекло (а), ПКЛ (б), ПКЛ-СООН (в), ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> (г) и ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> (д). Актиновый цитоскелет и клеточные ядра были окрашены Alexa 488 фаллоидин (зеленый) и DAPI (синий), соответственно. Масштаб 10 мкм. Распределение клеток IAR-2 (е) на поверхности тестируемых образцов (N = 20), пролиферативная активность IAR-2 (ж) на поверхности тестируемых образцов. (\*  $p \leq 0,001$  указывает на статистически значимое различие с контролем ПКЛ (t-тест))

Антибактериальная активность гентамицин-модифицированных волокон ПКЛ была изучена с использованием агар-диффузионного теста. В случае антибактериального эффекта вымывание ГМ из образцов ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> и ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> должно приводить к образованию зоны бактериального подавления. Нановолокна без иммобилизованного ГМ не проявляют какой-либо заметной антибактериальной активности против всех трех типов штаммов кишечной палочки, а именно К-19, К-41 и К-261 (Рисунок 14). Размер зоны ингибирования вокруг образцов ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> и ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> достигал 28 и 25 мм, соответственно (Рисунок 14а), что указывает на сильный антибактериальный эффект против всех типов тестируемых штаммов *E. coli*. Образцы ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> соответственно имели зону подавления 28, 15 и 21 мм в отношении *E. coli* К-19, К-41 и К-261 (Рисунок 14в). Для образца ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> диаметры зон ингибирования были определены как 25, 15 и 17 мм в отношении *E. coli* К-19, К-41 и К-261, соответственно (Рисунок 14б). Размер зон подавления хорошо коррелирует с бактериальной устойчивостью к гентамицину (согласно значениям минимальной ингибиторной концентрации (МИК)).

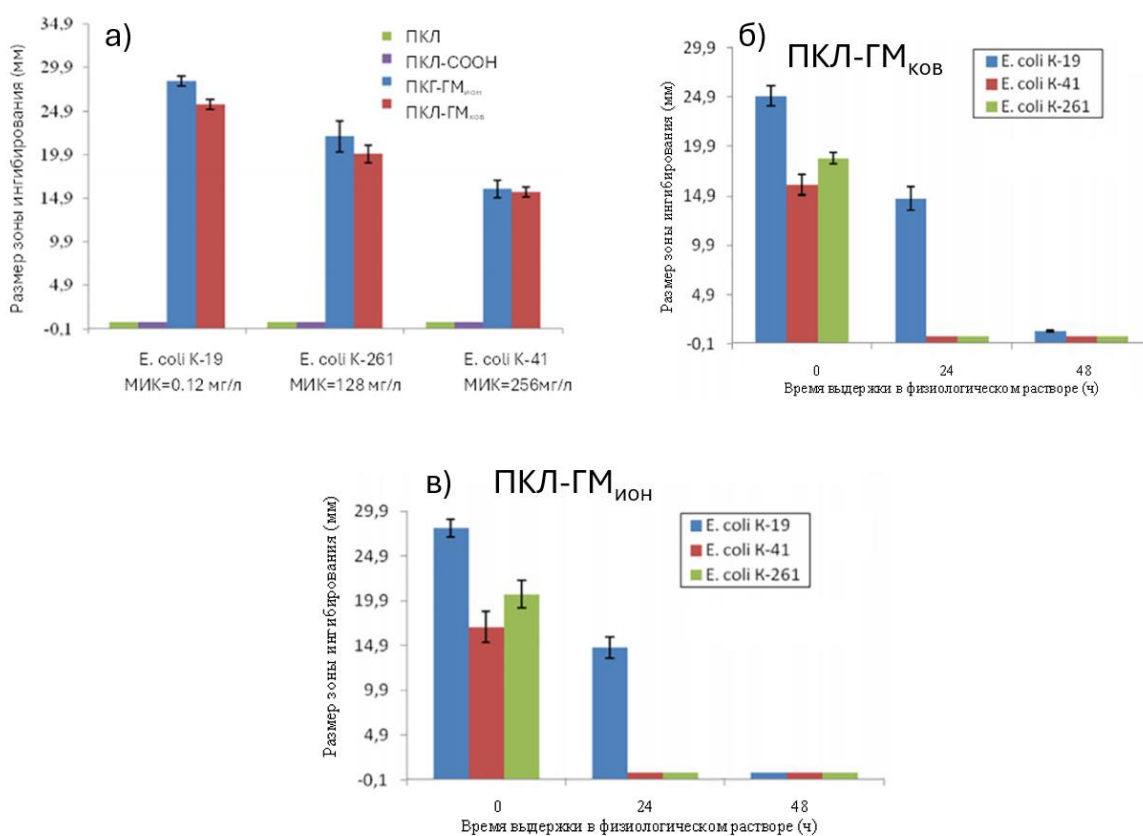


Рисунок 14 – Размер зоны ингибирования для различных бактериальных культур (а). Размер зон ингибирования вокруг образцов ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub> (б) и ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub> (в) в различных бактериальных суспензиях в зависимости от времени инкубации

Вторая стратегия основана на создании нанокомпозитных материалов. Один из подходов заключался во введении бактерицидного элемента серебра в состав ПКЛ-TiCaPCON методом ионной имплантации. Было выбрано 3 режима ионной имплантации, с целью изучения влияния режимов на содержание серебра. Технологические режимы обработки представлены в Таблице 5. Было показано, что данные режимы обработки не разрушают структуру волокон ПКЛ. (Рисунок 15)

Таблица 5 – Технологические режимы нанесения покрытия TiCaPCON-Ag на ПКЛ волокна

| Режим             | Условия напыления | Время работы магнетрона, мин | Условия имплантации              | Время работы имплантера, мин |
|-------------------|-------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| ПКЛ-TiCaPCON-Ag-1 | Расстояние 200 мм | 2                            | Расстояние 350 мм<br>15 кВ, 5 мА | 2                            |
| ПКЛ-TiCaPCON-Ag-2 | Давление 0,1 Па   | 3                            |                                  | 10                           |
| ПКЛ-TiCaPCON-Ag-3 | ток 0,5 А         | 5                            |                                  | 15                           |

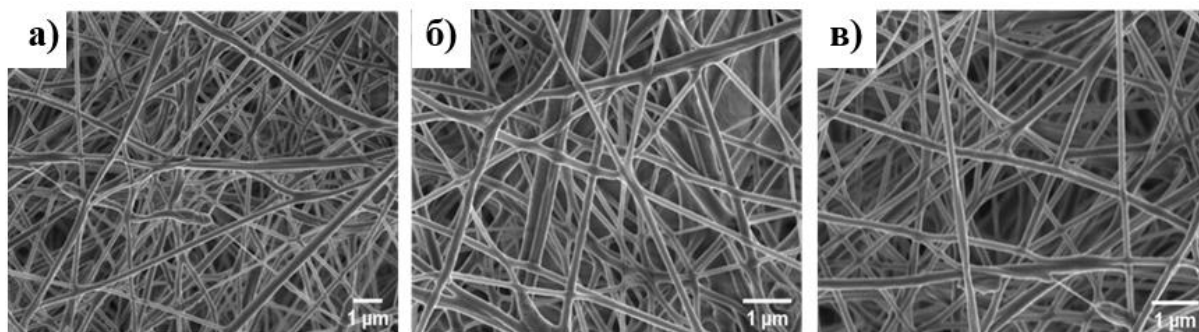


Рисунок 15 – Микрофотографии СЭМ образцов ПКЛ-TiCaPCON-Ag: режим 1 (а), режим 2 (б), режим 3 (в). Масштаб соответствует 1 мкм

Результаты элементного анализа химического состава образцов, полученные методом РФЭС, представлены в Таблице 6. Увеличение времени распыления композитной мишени  $TiC+10\%Ca_3(PO_4)_2$  ожидаемо привело к увеличению концентрации Ti и Ca в составе получаемого многокомпонентного покрытия TiCaPCON. Однако, интересно отметить, что более длительная имплантация ионов серебра не только не увеличила его концентрацию на поверхности образца, но, наоборот, привела к снижению количества детектируемого серебра (0.1 %).

Таблица 6 – Элементный анализ образцов ПКЛ-TiCaPCON-Ag-1,3, полученный методом РФЭС

| Образец           | Время имплантации Ag, мин | Атомная доля, % |      |     |      |      |      |     |
|-------------------|---------------------------|-----------------|------|-----|------|------|------|-----|
|                   |                           | [O]             | [Ti] | [N] | [Ag] | [Ca] | [C]  | [P] |
| ПКЛ-TiCaPCON-Ag-1 | 4                         | 23,5            | 3,3  | 1,8 | 0,6  | 0,2  | 69,7 | 0,9 |
| ПКЛ-TiCaPCON-Ag-3 | 15                        | 30,8            | 16,2 | 0,8 | 0,1  | 0,4  | 47,7 | 4,0 |

Для объяснения полученного результата процесс ионной имплантации был смоделирован с использованием программного обеспечения SRIM-2013 (The Stopping and Range of Ions in Matter). Было показано, что при увеличении количества имплантируемых ионов (времени обработки) происходит перераспределение ионов серебра с перемещением их в более глубокие слои. Полученные результаты свидетельствуют о том, что большая часть атомов серебра находится в глубине образца и, следовательно, не может быть детектирована методом РФЭС. В то же время, такое распределение серебра в волокнах может привести к продолжительному антибактериальному эффекту за счет пролонгированного выхода ионов серебра.

Оценка антибактериальной активности полученных материалов проводилась с использованием агар-диффузионного теста. Поскольку результаты масс-спектрометрического анализа показали низкие концентрации выхода серебра в раствор, а РФЭС анализ подтвердил наличие серебра на поверхности образцов, противомикробное действие оценивали не по наличию зоны ингибирования вокруг образца, а по анализу зоны ингибирования под образцом. Известно, что ионы тяжелых

металлов быстро не выводятся из организма, накапливаясь в органах и тканях. Таким образом, локальное бактерицидное воздействие является более предпочтительным для таких терапевтических агентов как серебро. Полученные результаты обобщены в Таблице 7.

Таблица 7 – Антибактериальный эффект после инкубации с тестируемыми образцами

| Тип штамма             | Антибактериальный эффект |                  |                  |                  |
|------------------------|--------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                        | ПКЛ                      | ПКЛ-TiCaPCON-Ag1 | ПКЛ-TiCaPCON-Ag2 | ПКЛ-TiCaPCON-Ag3 |
| <i>N.crassa</i> wt987  | -                        | +                | -                | -                |
| <i>N.crassa</i> nit 6  | -                        | +                | -                | -                |
| <i>N.crassa</i> nit 2  | -                        | +                | -                | -                |
| <i>E.coli</i> U20      | -                        | +                | -                | -                |
| <i>S.areus</i> 839     | -                        | +                | -                | -                |
| <i>B. anthracis</i> IV | -                        | +                | -                | -                |

Образец ПКЛ-TiCaPCON-Ag1, полученный после 4 мин ионной имплантации  $\text{Ag}^+$  с детектируемым количеством Ag на поверхности около 0.5 ат.%, проявляет антибактериальный эффект против всех исследуемых микроорганизмов. Образец ПКЛ-TiCaPCON-Ag2, полученный после 10 мин ионной имплантации серебра, и образец ПКЛ-TiCaPCON-Ag3, полученный после ионной имплантации  $\text{Ag}^+$  в течение 15 мин, не оказали видимого эффекта ни для одного из тестируемых штаммов, что обуславливается проникновением серебра в более глубокие слои и низкой скоростью высвобождения.

Альтернативным подходом к получению композитных материалов, содержащих наночастицы серебра, было использование высокореакционных карбоксильных групп в составе плазменно-осажденного полимерного покрытия на волокнах ПКЛ для захвата ионов  $\text{Ag}^+$  (за счет выдержки образца ПКЛ- $\text{COOH}$  в 0.01 М растворе  $\text{AgNO}_3$ ) с последующим восстановлением захваченных ионов  $\text{Ag}^+$  до наночастиц под действием УФ-излучения. Для оценки стабильности полученных нанокомпозитных материалов образцы погружали в воду на 24 ч (ПКЛ-Ag-24ч). Было показано, что предлагаемая технология приводит к равномерному распределению наночастиц по поверхности (Рисунок 16), при этом обеспечивается достаточная стабильность полученных материалов (65% от исходного количества при выдержке в воде в течение 24 ч). (Таблица 8)

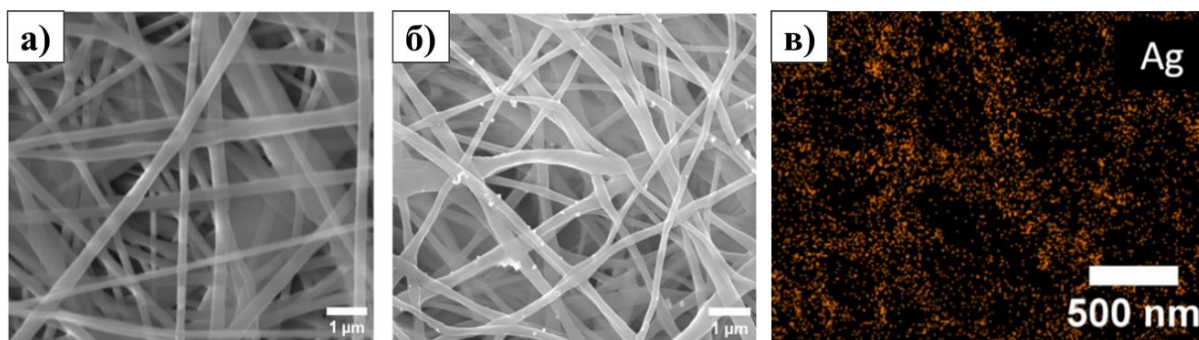


Рисунок 16 – СЭМ-изображения образцов ПКЛ (а), ПКЛ-Ag (б) и карта распределения Ag по поверхности ПКЛ-Ag (в)

Таблица 8 – Атомный состав образцов ПКЛ-Ag и ПКЛ-Ag-24ч

| Образец    | РФЭС, атомная доля, % |      |      |     | ЭДРС, атомная доля, % |     |     |     |
|------------|-----------------------|------|------|-----|-----------------------|-----|-----|-----|
|            | C1s                   | O1s  | Ag3d | N1s | C                     | O   | Ag  | Pt  |
| ПКЛ-Ag     | 33,8                  | 35,4 | 28,5 | 2,3 | 92,1                  | 8,4 | 0.3 | 0.1 |
| ПКЛ-Ag-24ч | 38,7                  | 40,7 | 18,3 | 2,3 | 91,1                  | 7,6 | 0.4 | 0.1 |

Была показана высокая антибактериальная активность ПКЛ-Ag относительно следующих штаммов патогенов: *E.coli* U20, *S.aureus* MW2, *Candida albicans* ATCC90028, *Candida aurus* CBS10913, *Candida parapsilosis* ATCC90018. Стоит отметить, что высокая активность образцов ПКЛ-Ag наблюдалось как в отношении планктонных бактерий, так и при изучении формирования биопленок (Рисунок 17).

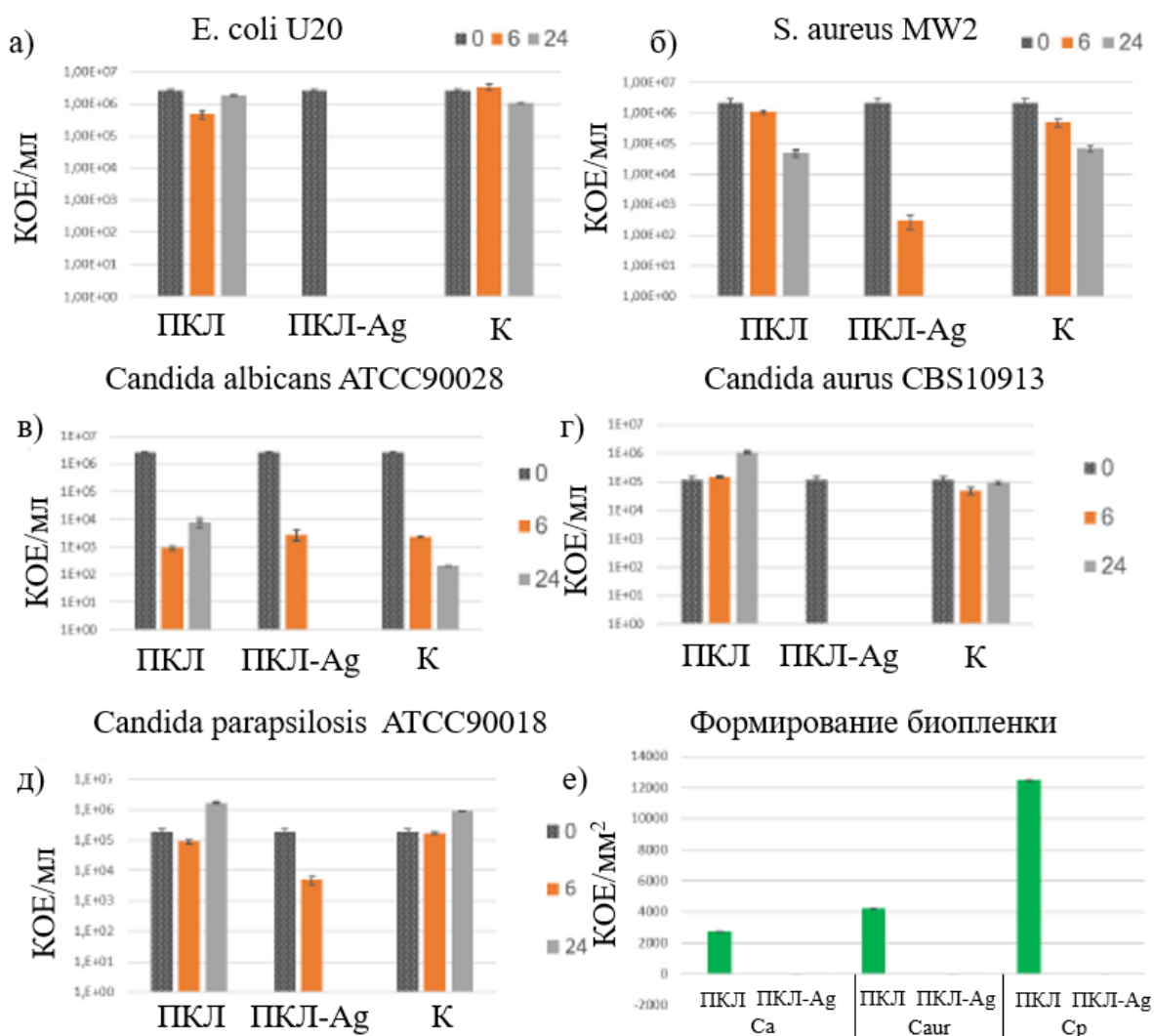


Рисунок 17 – Концентрация патогенных штаммов в КОЕ/мл после инкубации с тестируемыми образцами для *E.coli* U20 (а), *S.aureus* MW2 (б), *Candida albicans* ATCC90028 (в), *Candida aurus* CBS10913 (г), *Candida parapsilosis* ATCC90018 (д). Формирование биопленок на образцах ПКЛ и ПКЛ-Ag грибковыми штаммами (е)

Также был изучен альтернативный подход, заключающийся в иммобилизации наночастиц ZnO на поверхности ПКЛ-СООН. Синтезированные ZnO НЧ имеют сферическую форму со средним размером  $10,8 \pm 1,9$  нм. После обработки материала ПКЛ-СООН суспензией частиц ZnO, полученные образцы обозначали как ПКЛ-ZnO.

Для оценки стабильности иммобилизации НЧ ПКЛ-ZnO погружали в дистиллированную воду на 24 ч (ПКЛ-ZnO-24ч). Было показано, что карбоксильная модификация поверхности ПКЛ волокон приводит к равномерному распределению НЧ ZnO по поверхности материала, (Рисунок 18а) при этом анализ химического состава показывает высокую стабильность полученных нанокompозитных материалов: при ЭДРС анализе произошло уменьшение концентрации цинка на 0.7%, при этом состав поверхности не изменился; по данным РФЭС анализа после выдержки в воде количество цинка осталось на уровне в 5 % (Рисунок 18 б, Таблица 9).

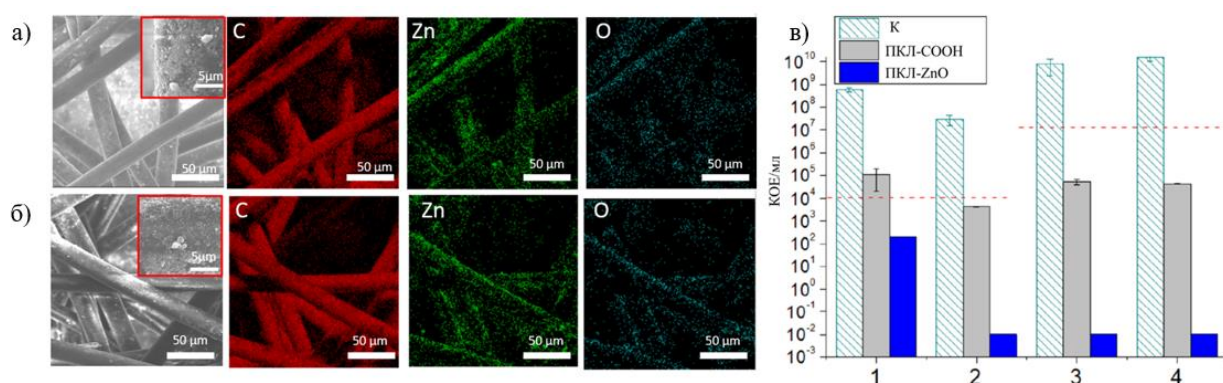


Рисунок 18 – СЭМ изображения образцов ПКЛ-ZnO(a) и ПКЛ-ZnO-24(б) с соответствующими картами элементного распределения, полученными методами ЭДРС; в)противогрибковая и антибактериальная активность ПКЛ-COOH и ПКЛ-ZnO в отношении *Candida parapsilosis* ATCC90018 (1), *Neurospora crassa* (2), *Escherichia coli* U20 (3) и *Staphylococcus aureus* CSA154 (4) оценивали по количеству КОЕ через 24 ч. К-контроль без образца. Пунктирные горизонтальные линии показывают начальную концентрацию клеток

Таблица 9 – Атомный состав образцов ПКЛ-ZnO и ПКЛ-ZnO-24ч

| Образец     | РФЭС, атомная доля, % |      |       | ЭДРС, атомная доля, % |     |       |      |
|-------------|-----------------------|------|-------|-----------------------|-----|-------|------|
|             | [C]                   | [O]  | [ZnO] | [C]                   | [O] | [ZnO] | [Pt] |
| ПКЛ-ZnO     | 69,0                  | 25,9 | 5,0   | 86,9                  | 6,0 | 5,7   | 1,4  |
| ПКЛ-ZnO-24ч | 70,8                  | 24,1 | 5,1   | 88,4                  | 5,3 | 5,0   | 1,3  |

Антибактериальная активность образцов ПКЛ и ПКЛ-ZnO была исследована против грамположительных (*Staphylococcus aureus* CSA154) и грамотрицательных (*Escherichia coli* U20) штаммов бактерий, кроме того, была проведена оценка фунгицидной активности против 2 штаммов грибов (*Candida parapsilosis* ATCC90018 и *Neurospora crassa*). Было показано, что образцы ПКЛ-ZnO полностью ингибируют штаммы *N. crassa*, *E. coli* U20 и *S. aureus* CSA154, и приводят к существенному ингибированию штамма *C. parapsilosis* ATCC90018 (снижение численности колоний-образующих единиц (КОЕ) на 2 порядка). (Рисунок 18в)

Для обоих типов материалов (ПКЛ-Ag, ПКЛ-ZnO) была изучена скорость выхода антибактериальных ионов методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Было показано, что в течение первого дня из состава материалов высвобождается 900 и 1200 мкг/л × см<sup>2</sup>, соответственно. Такие высокие концентрации связаны с высокой плотностью наночастиц на поверхности, что также подтверждается антибактериальной активностью в отношении различных штаммов. Материалы с высоким содержанием серебра или цинка могут быть токсичными. Поэтому потенциальным применением ПКЛ-ZnO и ПКЛ-Ag может быть их использование в

качестве мембран в высокоэффективных самоочищающихся фильтрах для защиты органов дыхания, где отсутствует непосредственный контакт с живыми тканями.

## ВЫВОДЫ

1. Установлены технологические режимы получения электроформованных волокон ПКЛ с диаметром распределения волокон 50-500 нм; микроструктура полученных нетканых материалов имитирует структуру внеклеточного матрикса. Оптимальные режимы электроформования: концентрация ПКЛ в формообразующем растворе из смеси муравьиной и ледяной уксусной кислот составляет 25 вес.%, прилагаемое напряжение 50 кВ, скорость подачи полимерного раствора 0.13 мкл/сек.
2. Разработаны технологические режимы осаждения полимерных покрытий (частота 13.56 МГц, мощность 500 Вт, рабочий цикл 5%, рабочее расстояние 8 см, рабочее давление 4 Па) из газовой смеси  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4/\text{Ar}$ . Установлено, что в составе осаждаемых покрытий количество сложноэфирных/карбоксильных групп варьируется в диапазоне 2-12% в зависимости от соотношения потоков реагирующих газов ( $\text{CO}_2$  к  $\text{C}_2\text{H}_4$ ), при этом вклад реакционноспособных карбоксильных групп составляет 0.1-0.8%. Установлено, что растворение полимерного слоя происходит в результате гидролиза сложноэфирных групп. Скорость гидролиза зависит от кислотности среды, что позволяет контролировать скорость высвобождения лекарственного агента и длительность терапевтического воздействия. Для получения стабильных покрытий с содержанием карбоксильных групп на уровне 0.3% было установлено соотношение потоков реагирующих газов  $\text{CO}_2$  к  $\text{C}_2\text{H}_4$  как 10.3:16. Оптимизированы технологические режимы осаждения покрытий при плазменной полимеризации  $\text{CO}_2/\text{C}_2\text{H}_4$  смеси на поверхность ПКЛ волокон с толщиной осаждаемого слоя 30 нм (время обработки 3 мин). Осаждение карбоксилсодержащего полимера на поверхность волокон приводило к уменьшению краевого угла смачивания с  $134^\circ$  (ПКЛ) до  $45^\circ$  (ПКЛ- $\text{COOH}$ ).
3. Оптимизированы технологические режимы магнетронного распыления композиционной мишени  $\text{TiC}+10\%\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  для формирования покрытий на поверхности ПКЛ нановолокон с сохранением их структуры. Установлено, что состав полученного покрытия содержит карбидные, нитридные и оксидные связи титана и аналогичен составу биоактивных покрытий  $\text{TiCaPCON}$ , используемых для модификации титановых имплантатов. Осаждение биоактивного многокомпонентного покрытия на поверхность волокон приводило к уменьшению краевого угла смачивания с  $134^\circ$  (ПКЛ) до  $34^\circ$  (ПКЛ- $\text{TiCaPCON}$ ).
4. Показана биоактивность волокон ПКЛ- $\text{COOH}$  и ПКЛ- $\text{TiCaPCON}$ . Биоактивность оценивалась двумя альтернативными методами: 1) путем выдержки в растворе, моделирующем внутреннюю среду организма (SBF) с последующим анализом изменений структуры и химии поверхности, 2) по активности щелочной фосфатазы. Установлено, что при выдержке в SBF на поверхности модифицированных образцов формируются  $\text{Ca}$ -содержащие наночастицы, что свидетельствует о их биоактивности. Активность щелочной фосфатазы выросла в 2 раза для ПКЛ- $\text{TiCaPCON}$  и в 3 раза для ПКЛ- $\text{COOH}$  по сравнению с необработанными ПКЛ волокнами. Показана высокая биосовместимость модифицированных волокон: ПКЛ- $\text{COOH}$  волокна обладают высокой адгезией и большой площадью распластывания эпителиальных клеток, что способствует регенерации мягких тканей, в то время ПКЛ- $\text{TiCaPCON}$  волокна проявляют высокую адгезию и стимулируют пролиферацию остеобластных клеток, что демонстрирует потенциал применения в костной регенерации. Модифицированные волокна не оказывают цитотоксического эффекта в отношении обеих тестируемых линий клеток.

5. Показано, что аминогруппы гентамицина взаимодействует с карбоксильными группами плазменно-модифицированных ПКЛ волокон за счет электростатических и ковалентных связей. Методом РФЭС показана высокая стабильность поверхностно-иммобилизованного гентамицина, вне зависимости от типа связи, который сохраняется на поверхности образцов после их выдержки в воде при 37 °С в течение 48 ч. Установлено, что количество иммобилизованного гентамицина, определенное по количеству его полного выхода методом спектрофотометрии, зависит от типа связи и составляет  $345 \pm 15$  (ионная связь) и  $195 \pm 11$  мкг/мл (ковалентная связь). Показано, что в зависимости от типа связи, можно регулировать количество сорбированного гентамицина и скорость его выхода. Ковалентное присоединение антибиотика обеспечивает более равномерный его выход на протяжении 3 дней. Были исследованы антибактериальные свойства полученных материалов в отношении различных штаммов кишечной палочки (*E. coli*), обладающих различной минимальной ингибиторной концентрацией (МИК) к гентамицину. Показано, что размер зоны ингибирования коррелирует с МИК, при этом образцы с ковалентно-связанным гентамицином (ПКЛ-ГМ<sub>ков</sub>), в отличие от электростатически связанного гентамицина (ПКЛ-ГМ<sub>ион</sub>) демонстрируют пролонгированный антибактериальный эффект после выдержки в воде в течение 48 ч. Была показана высокая биосовместимость образцов в отношении эпителиальных клеток IAR-2.

6. Показано, что ионы  $\text{Ag}^+$ , введенные в состав покрытий TiCaPCON методом ионной имплантации (ИИ), не влияют на структуру нановолокон ПКЛ. С увеличением времени ИИ (4, 10 и 15 мин) концентрация Ag на поверхности, детектируемая методом РФЭС, снижалась. На основе результатов теоретического моделирования это объясняется тем, что большая часть атомов Ag находится в глубине образца. Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой установлено, что кинетика выхода Ag в физиологический раствор (ФР) зависит от времени ИИ. Линейная скорость выхода Ag в ФР наблюдалась после ИИ в течение 10 и 14 мин, что связано с постепенным диффузионным выходом Ag в течение 7 дней. При краткосрочной обработке (4 мин) наблюдался выход  $\text{Ag}^+$  ионов на уровне 12 мкг/л в течение первых 24 часов, после чего скорость выхода ионов  $\text{Ag}^+$  постепенно снижалась и соответствовала 1-2 мкг/л/день. Показано локальное антибактериальное действие образцов ПКЛ-TiCaPCON-Ag1 (4 мин) в отношении патогенов *N. crassa* wt987, *N. crassa* nit 6, *N. crassa* nit 2, *E. coli* U20, *S. aureus* 839, *B. anthracis* IV.

7. Показано, что плазмохимическое осаждение карбоксил-содержащего полимерного слоя на поверхность ПКЛ волокон приводит к равномерному распределению наночастиц  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{ZnO}$ , при этом получаемые материалы показали стабильность в воде. Образцы ПКЛ-Ag демонстрирует 100% подавление планктонных бактериальных клеток, и полностью препятствуют росту биопленок штаммов: *E. coli* U20, *S. aureus* MW2, *C. auris* CBS10913, *C. parapsilosis* ATCC90018, *C. albicans* ATCC90028. Образцы ПКЛ-ZnO полностью ингибируют штаммы *Neurospora crassa*, *Escherichia coli* U20 и *Staphylococcus aureus* CSA154, и приводит к существенному ингибированию штамма *Candida parapsilosis* ATCC90018 (снижение численности КОЕ на 2 порядка). Показано, что в первые сутки материалы демонстрируют высокий выход бактерицидных ионов  $\text{Ag}^+$  и  $\text{Zn}^{+2}$  (900 и 1200 мкг/л $\times$ см<sup>2</sup>, соответственно). Высокая эффективность материалов в отношении широкого спектра патогенов открывает хорошие перспективы для создания самоочищающихся фильтрующих материалов для защиты органов дыхания.

8. Биологические испытания, проведенные в Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии, Московском Государственном Университете им. М.В. Ломоносова и Научно-исследовательском медицинском центре онкологии имени Н.Н. Блохина, показали, что поверхностная модификация

ультратонких волокон ПКЛ приводят к повышению биосовместимости и биоактивности в отношении клеток остеобластов и эпителиальных клеток. Введение антибактериальных компонентов приводит к выраженному антимикробному эффекту в отношении широкого спектра патогенов.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК и входящие в базы данных Web of Science и Scopus:**

1. Manakhov A. M., Kiryukhantsev-Korneev Ph. V., Michlíček M., **Permyakova E. S.**, Dvořáková E., Polčák J., Popov Z., Visotin M., Shtansky D. V. Grafting of carboxyl groups using CO<sub>2</sub>/C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/Ar pulsed plasma: theoretical modeling and XPS derivatization. // *Applied Surface Science*. – 2018. – V. 435. – P.1220–1227. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.11.174, Q1.

2. Manakhov A. M., **Permyakova E. S.**, Ershov S., Sheveyko A., Kovalskii A., Polčák J., Zhitnyak I. Y., Gloushankova N. A., Zajíčková L., Shtansky D. V. Bioactive TiCaPCON-coated PCL nanofibers as a promising material for bone tissue engineering. // *Applied Surface Science*. – 2019. – V. 479. – P. 796-802. DOI: 10.1016/j.apsusc.2019.02.163, Q1.

3. **Permyakova E. S.**, Kiryukhantsev-Korneev Ph. V., Kotyakova (Gudz) K.Yu., Konopatsky A. S., Polčák J., Zhitnyak I. Y., Gloushankova N. A., Shtansky D. V., Manakhov A. M. Comparison of different approaches to surface functionalization of biodegradable polycaprolactone scaffolds. // *Nanomaterials*. – 2019. – V. 9. – №12. – P. 1769. DOI:10.3390/nano9121769, Q1.

4. **Permyakova E. S.**, Polčák J., Slukin P. V., Ignatov S. G., Gloushankova N. A., Zajíčková L., Shtansky D. V., Manakhov A. Antibacterial biocompatible PCL nanofibers modified by COOH-anhydride plasma polymers and gentamicin. // *Materials and Design*. – 2018. – V. 153. – P. 60-70, DOI: 10.1016/j.matdes.2018.05.002, Q1.

5. **Permyakova E. S.**, Manakhov A. M., Kiryukhantsev-Korneev Ph. V., Leybo D. V., Konopatsky A. S., Makarets Yu. A., Filippovich S. Yu., Ignatov S. G., Shtansky D. V. Electrospun polycaprolactone-ZnO nanocomposite membranes with high antipathogen activity. // *Polymers (Basel)*. – 2022. – V. 14. - №24. – P.5364. DOI: 10.3390-polym14245364, Q1.

6. **Permyakova E. S.**, Manakhov A. M., Kiryukhantsev-Korneev Ph. V., Konopatsky A. S., Makarets Yu. A., Kotyakova K. Yu., Filippovich S. Yu., Ignatov S.G., Solovieva A.O., Shtansky D.V. Self-sanitizing polycaprolactone electrospun nanofiber membrane with Ag nanoparticles. // *J. Funct. Biomater.* – 2023. – V.14. – №7. – P.336. DOI: 10.3390/jfb14070336, Q1.

7. Manakhov A. M., **Permyakova E. S.**, Sitnikova N. A., Tsygankova A. R., Alekseev A. Y., Solomatina M. V., Baidyshev V. S., Popov Z. I., Blahová L., Eliáš M., Zajíčková L., Kovalskii A. M., Sheveyko A. N., Kiryukhantsev-Korneev Ph. V., Shtansky D. V., Nečas D., Solovieva A. O. Biodegradable nanohybrid materials as candidates for self-sanitizing filters aimed at protection from SARS-CoV-2 in public areas. // *Molecules*. – 2022. – V. 27. - №4. P. 1333. DOI: 10.3390/molecules27041333, Q1.

## Результаты интеллектуальной деятельности:

Пермякова Е.С., Кирюханцев-Корнеев Ф.В., Манахов А.М., Ковальский А.М., Штанский Д.В. Плазменная обработка термочувствительных нановолокнистых скаффолдов. Зарегистрировано в депозитарии Ноу-Хау НИТУ «МИСиС» № 02-457-2020 ОИС от 20 апреля 2020 года

### Публикации в материалах научно-технических конференций:

1. Permyakova E.S. Self-Sanitizing Polycaprolactone Electrospun Nanofiber Membrane with High Antipathogen Activity, Materials of 5th Int'l Conference on Nanochemistry (ICN 2024) /E.Permyakova// Xiamen, China, April 2024, P.46
2. Пермякова Е.С. Сравнение адгезии и пролиферации нервных клеток на поверхности однонаправленных и хаотично-ориентированных волокон из поликапролактона/ Пермякова Е.С., Макарец Ю.А., Котякова К.Ю., Штанский Д.В. // Сборник тезисов международной научной конференции-школы «Биогибридные системы в химии, биотехнологии и медицине», Тула, апрель 2024, С.23
3. Пермякова Е.С. Влияние поверхностных модификаций поликапролактоновых нановолокон на адгезию и пролиферацию мезенхиальных стволовых клеток/ Пермякова Е.С., Манахов А.М., Соловьева А.О., Штанский Д.В.// В сборнике XXVI Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, апрель 2023, С.215.
4. Permyakova E. Functionalized biodegradable PCL nanofibers for bone tissue engineering / Permyakova E., Manakhov A., Kiryukhantsev-Korneev Ph., Sheveyko A., Shtansky, D. // В сборнике: Materials of British Council Researcher Links Workshop “Patient-tailored biomaterials for tissue regeneration, combating microbial contamination and drug delivery”, Lancaster, UK, October 2019, P.42.
5. Permyakova E. Ag-doped PCL nanofibers for tissue engineering / Permyakova E., Manakhov A., Sheveyko A., Polčák J., Zajíčková L., Kovalskii A., Ignatov S., Shtansky D. // В сборнике: Materials of 13th Edition of International Conference on Advances in Tissue Engineering and Biomaterials Science, London, UK, June 2019, P.25.
6. Permyakova.E. CO<sub>2</sub>/C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> plasma coating of polycaprolactone nanofibers for tissue engineering/ E. S. Permyakova, A.M. Manakhov, P. V. Kiryukhantsev-Korneev, E. Kedronova, D. V. Shtansky// В сборнике: Materials of 61st Annual Technical Conference TechCon, Orlando, FL, USA, May 2018, P.40, DOI: 10.14332/svc18.proc.0021
7. Пермякова Е.С. Многослойные покрытия с антибактериальными и антиадгезивными свойствами для имплантатов / Пермякова Е.С. //В сборнике: XIV Российской ежегодной конференции молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов», Москва, октябрь 2017, С. 256-257.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Murray, C.J.; Ikuta, K.S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Robles Aguilar, G.; Gray, A.; Han, C.; Bisignano, C.; Rao, P.; Wool, E.; et al. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *The Lancet* 2022, 399, 629–655, doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
2. Rahimkhoei, V.; Padervand, M.; Hedayat, M.; Seidi, F.; Dawi, E.A.; Akbari, A. Biomedical Applications of Electrospun Polycaprolactone-Based Carbohydrate Polymers: A Review. *Int J Biol Macromol* 2023, 253, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126642.
3. Cloutier, M.; Mantovani, D.; Rosei, F. Antibacterial Coatings: Challenges, Perspectives, and Opportunities. *Trends Biotechnol* 2015, 33, 637–652, doi:10.1016/j.tibtech.2015.09.002.