АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности **6D072300 – Техническая физика** на тему «**Исследование наноструктурированных апатит-биокомпозитных материалов и покрытий»**, выполненной

Тұрлыбекұлы Аманжолом

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена экспериментальным исследованиям структурно-фазового состояния материалов на основе гидроксиапатита (ГА) и альгината натрия (Алг) при легировании цинком, исследованию их антибактериальных свойств и биосовместимости, а также разработке технологических режимов нанесения биокомпозитных материалов на биомиметические металлические структуры, полученные методом реверс-инжиниринга. В работе применены передовые апробированные экспериментальные методы исследования, проведенные в лабораториях научно-исследовательских центров Казахстана, ближнего и дальнего зарубежья.

Актуальность работы. Костная ткань (КТ) представляет собой композиционный природный материал, который включает органический компонент (коллаген, тип I), в который встроены нанокристаллы нестехиометрического гидроксиапатита (биологического апатита). Эта структура является прочной как при растяжении (из-за органического компонента), так и при сжатии (из-за неорганического компонента). Биологический апатит включает ряд неорганических ионов. Установлено, что включение небольшого количества таких ионов, в частности ионов цинка, магния, меди и серебра, в структуру биоапатита оказывает существенное влияние на его свойства. Ионы цинка способствуют увеличению плотности КТ, предотвращают потерю костной массы, улучшают адгезию белков и повышают антибактериальную активность. Однако, данный аспект (включение неорганических ионов различных металлов) плохо изучен с точки зрения морфологии и симметрии молекулы ГА при замещении атомов кальция цинком.

Широкое использование препаратов с антимикробным действием привело к формированию устойчивости микроорганизмов к широкому спектру антибиотиков. Одним из подходов к решению этой проблемы во всем мире является активный поиск неорганических антимикробных компонентов или модификация биоматериалов неорганическими биоактивными ионами для инициирования контролируемой реакции в тканях и для обеспечения антимикробной активности. В работах, изучались антибактериальные свойства гидроксиапатита (ГА), а также других материалов и покрытий при легировании ионами Zn, Cu, Au и др.. В последнее время высокие антибактериальные свойства композиционного материала на основе сульфида цинка с альгинатом натрия (ZnS + альгинат) были продемонстрированы в отношении ряда грамположительных и

грамотрицательных бактерий. Альгинат натрия представляет собой биосовместимый, нетоксичный природный полисахарид, состоящий из мономеров β-D-мануроновой и α-L-гулуроновой кислот, он связывает и удаляет радионуклиды из организма, снижает уровень холестерина в крови и не вызывает аллергию. Также известно, что материалы на основе ZnO характеризуются выраженной биологической активностью, высокой прочностью на разрыв, способностью выдерживать экстремальные условия эксплуатации. Взаимодействие цинка с альгинатом и ГА обсуждается в работах. Исследования ZnO ведутся, в основном, как самостоятельного соединения, и как следствие, практически полностью отсутствуют результаты анализа фазового состояния оксида цинка, процессов замещения кальция цинком в апатите кальция и в альгинате натрия, влияние фазового состояния цинка на антибактериальные свойства и биосовместимость материалов. Поэтому изучение взаимодействия цинка с остальными компонентами композита, а также структурно-фазового состояния цинка в матрице Алг является актуальной задачей в настоящее время.

Одним из важных свойств имплантата является способность к остеоинтеграции. Также необходимыми свойствами являются биосовместимость и коррозионная стойкость. Современные тенденции в медицинской технике, направлены на развитие новых материалов с остеокондуктивными и антибактериальными свойствами.

Процесс осаждения покрытий является неравновесным. Следствием этого, между субстратом и нанесённым покрытием, возникают отличия по элементному, фазовому составу, степени кристалличности и/или степени аморфизации, микроструктуры, морфологии поверхности. Данные параметры, зависят как от процесса осаждения, так и от применения или неприменения обработки до и после нанесения.

Данная работа посвящена комплексному исследованию свойств биомиметических композитов, близких к костной ткани и состоящих из гидроксиапатита, наноструктурных частиц ZnO и альгината натрия. Исследовано влияние полимера на однородность распределения частиц ZnO в композите, а также влияние ZnO на пористость и степень поглощения (набухания) жидкости. Образцы представлены в виде гранул и гидрогеля, обеспечивающие заполнение дефектов сложной геометрии с минимальным зазором между костью и имплантатом. Решена техническая задача получения металлических имплантатов с биомиметической архитектурой с нанесенным биоактивным покрытием из гидроксиапатита, легированного цинком.

Объект исследования. Получение наноструктурных биокомпозитных материалов на основе гидроксиапатита, альгината натрия и оксида цинка, а также процесс нанесения покрытий на основе гидроксиапатита на пористые металлические структуры, разработка биомиметической архитектуры субстрата.

Предмет исследования. Влияние включения оксида цинка и натрий альгината на фазовый и функциональный состав, антибактериальные свойства, цитотоксичность и биосовместимость апатит-композитного

материала и покрытий на его основе на металлические биомиметические субстраты.

Методы исследования. При выполнении данной диссертационной работы были использованы экспериментальные методы исследования морфологии (растровая электронная микроскопия), функционального состава (ИК-спектрометрия), структурно-фазового состояния (рентгеноструктурный анализ и просвечивающая электронная микроскопия). Разработка биомиметической архитектуры производилось оптическим 3D сканированием с последующим реверс инжинирингом. Использовался оптический 3D сканер Smarttech3D Universe (Польша), обработка полученных облаков точек проводилось программным обеспечением Geomagic Design X. Печать субстратов проводилось методом селективного лазерного плавления порошка на установке Mlab cusing R (Concept Laser, Германия). Нанесение покрытий проводилось методами гидротермального осаждения и микроплазменного напыления. Антибактериальные свойства синтезированных материалов исследовалось на колониях грамположительных и грамотрицательных бактерий, методами диффузии в «агар» и совместного инкубирования. Цитотоксичность материалов исследовали на культурах клеток мышиных остеобластов и фибробластов NIH-3T3 методом совместного культивирования (Аахенский университет прикладных наук, Германия).

Цель работы. Целью диссертационной работы является проведение комплексного исследования структуры, фазового состава композита на основе гидроксиапатита и альгината натрия легированных оксидом цинка. Разработка методик и технологий по созданию композитного биомиметического имплантата.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы **основные задачи исследования:**

1. Модифицировать процесс синтезирования композитных материалов на основе гидроксиапатита и альгината натрия, методом химического осаждения с целью их наноструктурирования. Определение влияния оксида цинка на элементный, фазовый, функциональный состав чистого гидроксиапатита в порошковом виде (ГАп), в виде гидрогеля (ГАг) и композитов ГА-Алг, ГА-Алг-ZnO.

2. Получить опытные образцы медицинских имплантатов с трабекулярной, биомиметической архитектурой методом реверс-инжиниринга из стали 316L и медицинского сплава Ti6Al4V.

3. Разработать модифицированный метод нанесения кальций-фосфатных покрытий, с целью получения покрытия кристаллического гидроксиапатита, легированного цинком. Определить режимы и особенности нанесения композитного наноструктурного покрытия ГА - ZnO на пористые металлические печатные структуры, полученные мтодом селективного лазерного плавления.

4. Исследовать in vitro цитотоксичность и биосовместимость композитного материала ГА-Алг-ZnO, ГА-ZnO и покрытий ГА, ГА-ZnO на примере культуры клеток соединительной ткани (мышиные фибробласты NIH-3T3), антибактериальные свойства композитных материалов ГА-Алг-ZnO и ГА-ZnO;

Научная новизна

- **Впервые** был получен и исследован композитный материал на основе гидроксиапатита и альгината натрия, легированного нанокристаллами оксида цинка в двухфазном состоянии.
- **Впервые** исследованы кальций-фосфатные покрытия, нанесенные на пористые биомиметические металлические структуры, полученные методом селективного лазерного плавления (СЛП); получен новый тип ортопедических имплантатов с искусственной трабекулярной структурой для использования в медицине.
- Предложен механизм антимикробной активности нанокристаллов ZnO при его двухфазном состоянии, так наночастицы ZnO с кубической структурой имеют бо'льшую растворимость и, как следствие, бо'льший вклад в антибактериальную активность, чем наночастицы с гексагональной структурой.

Научная и практическая значимость работы

Полученные результаты экспериментальных методов исследований дают более глубокое понимание о морфологии, физике взаимодействия альгината натрия и гидроксиапатита при добавлении оксида цинка, процессах и механизмах антимикробной активности композитных материалов с добавлением оксида цинка. Доказано двухфазное состояние оксида цинка, что имеет значительное влияние на механизм антибактериальной активности. Данная работа имеет важное практическое значение, что подтверждается экспериментальными исследованиями по оценке антимикробных свойств, цитотоксичности и биосовместимости. Внедрение данного материала в медицинскую практику, окажет положительный эффект на скорости заживления дефектов и срастания кости.

Проведенные исследования создают предпосылки для создания новых материалов, которые могут быть использованы в различных направлениях медицины.

Связь работы с научно-исследовательскими проектами

Работа выполнялась в соответствии с тематическими планами НИОКР университета по следующей подпрограмме: 0005/ПЦФ-17 «Разработка технологии производства изделий медицинского назначения из тантала и ниобия» номер гос. регистрации 0117РК00047 в рамках ПЦФ «Целевая научно-техническая программа Восточно-Казахстанского государственного технического университета им. А. Серикбаева, ориентированная на разработку новых видов продукции для производства на ведущих промышленных предприятиях Восточно-Казахстанской области» на 2017-2019 годы.

Личный вклад автора

Автор выполнил анализ литературных данных по теме исследования, провел основную часть экспериментов, осуществил обработку и анализ полученных экспериментальных данных, участвовал в написании публикаций, обсуждении результатов на конференциях и выставках. Обсуждение и интерпретация результатов анализа, а также формулировка основных выводов проведены под руководством зарубежного научного консультанта профессора А.Д. Погребняка, и отечественного научного консультанта профессора С.В. Плотникова. Оказана помощь в проведении и интерпретации исследований по определению цитотоксичности и антимикробной активности сотрудниками КазНУ им.Аль-Фараби д.б.н. Савицкой И.С. и к.б.н. Кистаубаевой А.С., а также сотрудниками СумГУ, А.б.н. Суходуб Л.Б. и член.кор. НАН Украины А.ф.-м.н. Суходуб Л.Ф..

Основные положения, выносимые на защиту

• Модификация метода химического осаждения, ультразвуковым и микроволновым излучением приводит к изменению симметрию молекулы ГА, замещая атомы кальция цинком, при добавлении ZnO в ГА и композит ГА-Алг, о чем свидетельствует смещение линии O—P—O группы, а также результаты исследования ПЭМ и РЭМ.

• Нанокристаллы ZnO в составе композитного материала на основе гидроксиапатита и альгината натрия имеют двухфазное состояние, с кубической и гексагональной структурой, при ассистировании ультразвукового излучения во время синтеза.

• Покрытия на основе гидроксиапатита, полученные методом гидротермального осаждения, при дополнительном ассистировании электрического поля, нанесенные на металлические имплантаты с биомиметической архитектурой, разработанные и полученные методом реверс-инжиниринга, имеют лучшую кристалличность по сравнению с покрытиями, полученные микроплазменными методами.

Достоверность, полученных результатов, обеспечивается использованием независимых взаимодополняющих и хорошо апробированных экспериментальных методов исследования. Результаты исследований получены с помощью современных приборов и оборудований физического материаловедения, такими как: растровый электронный микроскоп JSM-6390LV – фирмы JEOL (Япония), электронный просвечивающий микроскоп JEOL JEM-2100 (Япония) с энергией электронов до 200 keV, рентгеновский дифрактометр PanAnalytical Xpret Pro, энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDX) на растровом электронном микроскопе JEM-2100 (Япония), ИК спектрометр FTIR-801 Simex, а также на приборы для определения цитотоксичности и антибактериальной активности.

Полученные результаты в целом, согласуются с результатами других исследователей СНГ и дальнего зарубежья. Основные аспекты проделанной

работы представлены в международных конференциях и опубликованы, в рецензируемых научных журналах дальнего зарубежья и в пределах Казахстана.

Апробация результатов исследования. Основные экспериментальные результаты диссертации докладывались и обсуждались:

− на XIII Международной научно-технической конференции «Ғылым және білім -2018», 12 апреля, ЕНУ им. Л.Н. Гумилева, г. Астана, 2018 г., Казахстан;

− на IV Международной научно-технической конференции студентов, магистрантов и молодых ученых, 13 апреля, ВКГТУ им.А.Серикбаева, г. Усть-Каменогорск, 2018 г., Казахстан;

− на 8-ой Международной конференции NAP-2018, "Nanomaterials: Applications & Properties", 9-14 сентябрь, Затока, Украина.

− на 27-ой Международной конференции металлургии и материалов «Metal 2018», 23-25 мая 2018 г., г. Брно, Чехия а также нашли свое отражение в международных научных публикациях, в том числе в статьях, рекомендованных ВАК.

Публикации. Материалы диссертационной работы изложены в 12-ти публикациях, в том числе в 4-х научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, индексируемых в базе данных «Web of Science», в 6-ти материалах международных конференций, в том числе в 2-х материалах индексируемых базой данных SCOPUS и Web of Science», в журнале, индексируемом базой данных SCOPUS, имеющий импакт-фактор – 3,057 (2017).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5-ти глав, выводов, списка литературы, содержащего 198 наименований. Основной текст изложен на 115 страницах, содержит 45 рисунков, 7 таблиц, 2 приложения.

Во введении показана актуальность, представлены обзор и постановка проблемы, изучаемой в настоящей работе, сформулированы цели и задачи, описана новизна полученных результатов, обоснована их научная и практическая ценность. Приведены основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, публикации, апробация и краткое содержание диссертации.

Первый раздел посвящен литературному обзору: основных применяемых материалов в современной ортопедии, описанию фосфатов кальция, биологического апатита и костная ткани, описанию наночастиц оксида цинка.

Во втором разделее обсуждаются объекты исследований, а также детально изложены принципы, методы получения, средства реализации испытаний и определения антибактериальных свойств, биосовместимости и цитотоксичности наноструктурных апатит-биокомпозитных материалов и покрытий.

В третьем разделе описаны результаты исследовования композитного материала с наноразмерной архитектурой на основе биоапатита, альгината

натрия и микрочастиц ZnO. Обсуждаются результаты воздействия электромагнитного и ультразвукового излучения во время синтеза на свойства конечного материала.

В четвертом разделе представлены результаты нанесения кальций-апатитных покрытий на пористые структуры из 316L И Ti6Al4V методами модифицированного гидротермального осаждения и микроплазменного напыления.

В пятом разделе представлены результаты исследования антибактериальных свойств, цитотоксичности и биоссовместимости композитных материалов с наноразмерной архитектурой основе биоапатита, альгината натрия и микрочастиц ZnO и их покрытий

В заключении подводятся итоги и формулируются основные результаты диссертационной работы.