

СОЛОМАХА
Ольга Александровна

**МОДИФИКАЦИЯ ЧАСТИЦ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ПРОИЗВОДНЫХ ГРАФЕНА
ПОЛИАНИОНАМИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ
НА ОСНОВЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОЛИЭФИРОВ**

Специальность 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

г. Гатчина
2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

Научный руководитель: **Коржикова-Влах Евгения Георгиевна**
кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории полимерных материалов для биотехнологии и медицины филиала НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ИВС

Официальные оппоненты: **Исламова Регина Маратовна**
доктор химических наук, профессор, профессор кафедры химии высокомолекулярных соединений Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Бурдуковский Виталий Федорович
доктор химических наук, доцент, заведующий лабораторией химии полимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Байкальского института природопользования Сибирского отделения Российской академии наук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»

Защита диссертации состоится «04» июня 2026 г. в 11⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 75.1.082.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по адресу: 199004, Санкт-Петербург, Большой пр. В. О., 31, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ (Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1, тел.: +7 (84371) 460-44) и на сайте по адресу:
https://www.pnpi.nrcki.ru/images/nauka/dissovet/75108201/SolomahaOA/Диссертация_Соломаха.pdf

Отзывы на автореферат в одном экземпляре, заверенные печатью, просим отправлять по адресу: 188300, Россия, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1, Диссертационный совет 75.1.082.01, e-mail: dissovet_macro@pnpi.nrcki.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2026 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук

Кононова Светлана Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Высокомолекулярные соединения находят все более широкое применение в биотехнологии и медицине благодаря возможности создания полимерных материалов с заданными свойствами, которые определяются структурой и составом макромолекул. Одним из наиболее актуальных направлений в этой области является разработка новых биodeградируемых полимерных материалов, обладающих комплексом свойств, необходимых для эффективной регенерации костной ткани. Актуальность данного направления исследований, в первую очередь, обусловлена существующими проблемами в области реконструктивной хирургии, связанными с восстановлением костных дефектов (остеопластика) с использованием костных ауто- или ксенотрансплантатов, металлических и керамических имплантатов. В частности, к недостаткам использования костных ауто-трансплантатов можно отнести необходимость проведения дополнительного хирургического вмешательства с целью взятия соответствующего материала для последующей трансплантации, возможные деформации кости в месте забора материала, ограниченный объем донорской ткани, необходимость сложной подготовки, вероятность развития бактериальных осложнений и др. Использование ксенотрансплантатов (материалов животного происхождения) сопряжено с высокой иммуногенностью и значительным риском отторжения. К недостаткам металлических имплантатов относят отличие в механических свойствах имплантата и кости, что в условиях высоких нагрузок может приводить к истиранию и разрушению собственной костной ткани, и, как следствие, возникновению вторичных переломов. Кроме того, наличие металлических имплантатов может причинять огромный дискомфорт для жизни пациента (искажать результаты рентгенологических исследований, препятствовать прохождению через металлоискатели, проведению МРТ и др.). В свою очередь, ломкость и хрупкость являются особенностями керамических имплантатов.

В основе применения специализированных биосовместимых и биodeградируемых полимерных материалов для регенерации костной ткани лежит идея получения пористых матриц, способных выполнять поддерживающую функцию на начальном этапе и обеспечивать остеокондуктивные и/или остеоиндуктивные свойства в процессе остеогенеза, а также постепенно деградировать, замещаясь на вновь образованную костную ткань. Для повышения эффективности остеогенеза на поверхности данных имплантатов перед проведением имплантации могут быть адгезированы мезенхимальные стволовые клетки, взятые у соответствующего пациента. Исходя из этого, полимерный материал матрицы должен обеспечивать необходимое для клеток микроокружение, быть биосовместимым (не вызывать воспаления или некроза окружающих тканей), деградировать в условиях организма до нетоксичных метаболитов со скоростью, достаточной для формирования собственной костной ткани, обладать механическими характеристиками, приближенными к таковым для костной ткани, а также обладать значительным объемом макропор, необходимых для образования сосудов, пространственного расположения и миграции клеток, проникновения питательных веществ и удаления продуктов жизнедеятельности. Отсутствие современных материалов, в полной мере отвечающих перечисленным требованиям, обуславливает актуальность исследований, направленных на разработку новых компонентов и композиций с заданным комплексом свойств. С учетом изложенного выше, в данной диссертационной работе предложена стратегия создания усовершенствованных композиционных материалов для регенерации костной ткани. Основу материала составляет биodeградируемая матрица из алифатического сложного полиэфира, в которую введен наполнитель (нанокристаллическая целлюлоза или производное графена), функционализированный полианионами для придания материалу остеокондуктивных свойств и улучшения его механических характеристик и биологических свойств.

Таким образом, **целью** данной **диссертационной работы** являлась разработка методов химической модификации частиц нанокристаллической целлюлозы и производных графена амфифильными полианионами и изучение возможности их применения в качестве наполнителей

в матрицах на основе поли(ϵ -капролактона) и поли(L -лактида) для получения биосовместимых композиционных материалов, обладающих osteoconductive свойствами и механической прочностью, приближенной к характеристикам некоторых видов костной ткани.

Достижение поставленной цели включало в себя решение следующих **задач**:

- Синтез амфифильных и аминокислотосодержащих производных поли(глутаминовой кислоты) и гепарина;
- Разработка методов химической модификации поверхности частиц нанокристаллической целлюлозы амфифильными производными гепарина и поли(глутаминовой кислоты);
- Разработка методов химической модификации поверхности частиц оксида графена и аминированного графена поли(глутаминовой кислотой);
- Получение композиционных пленок на основе модифицированных частиц нанокристаллической целлюлозы/производных графена в качестве наполнителя и поли(ϵ -капролактона)/поли(L -лактида) в качестве полимера матрицы; установление влияния состава композита на его механические и биологические свойства;
- Получение трехмерных композиционных матриц на основе выбранных оптимальных составов и оценка их применимости в качестве osteoplastic материалов.

Объекты и методы исследования. Основными объектами исследований являлись нанокристаллическая целлюлоза (НКЦ) (BGB Ultra™) и частицы аминированного графена (АГ) и оксида графена (ОГ) (получены из Физико-технического института имени А.Ф. Иоффе РАН). В качестве полианионов использовались амфифильные и аминокислотосодержащие производные поли(глутаминовой кислоты) (ПГлу) и гепарина (Геп мод.). Для подтверждения структуры и определения состава, степени полимеризации и молекулярно-массовых характеристик полученных ПГлу и Геп мод. применялись методы ^1H ЯМР спектроскопии и эксклюзионной жидкостной хроматографии (ЭЖХ). Успешность модификации НКЦ, ОГ и АГ полианионами была подтверждена методами ИК- и твердотельной ^{13}C ЯМР спектроскопии, рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, элементного анализа, кондуктометрического титрования и количественного высокоэффективного жидкостного хроматографического анализа (ВЭЖХ). Физико-химические характеристики исходных и модифицированных частиц были изучены методами динамического и электрофоретического рассеяния света (ДРС и ЭФРС), термогравиметрического анализа (ТГА).

Для изготовления композиционных пленок и 3D-матриц использовали модифицированные частицы НКЦ, ОГ и АГ в качестве наполнителей и сложные полиэфиры алифатических гидроксикислот, а именно, поли(ϵ -капролактон) (ПКЛ) или поли(L -лактид) (ПЛЛА), в качестве полимеров матрицы. Для композиционных и ненаполненных материалов исследовали морфологию поверхности методами оптической, поляризационной и сканирующей электронной микроскопии, а также изучали механические свойства в тестах на растяжение и сжатие. Дegradацию матричного полимера в ходе длительного инкубирования ненаполненных материалов и композитов в водно-солевой среде оценивали методом ЭЖХ. Оценка способности материалов адгезировать на своей поверхности различные клетки и стимулировать биоминерализацию проводилась с использованием методов МТТ, а также специфических методов окрашивания отложений кальция, определения активности щелочной фосфатазы и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. Для некоторых материалов проведена оценка биологических свойств *in vivo*.

Предложенные в диссертационной работе методы химической модификации НКЦ, ОГ и АГ полианионами, а именно, амфифильными производными поли(глутаминовой кислоты) и гепарина, а также получение и изучение свойств композиционных материалов с использованием модифицированных частиц в качестве наполнителей и поли(ϵ -капролактона) или поли(L -лактида) в качестве матричных полимеров ранее в литературе не описаны. Таким образом, **научная новизна представляемой работы** заключается в том, что **впервые**:

1. Разработан способ модификации частиц ОГ и АГ полипептидом с использованием метода полимеризации с раскрытием цикла *N*-карбоксиангидрида α -аминокислоты, инициируемой аминогруппами поверхности частиц производных графена;
2. Разработаны методы химической модификации НКЦ амфифильными и аминокислотными производными поли(глутаминовой кислоты) и гепарина;
3. Получены композиционные материалы на основе алифатических сложных полиэфигов с использованием модифицированных полианионами частиц НКЦ и производных графена;
4. Изучено влияние состава и содержания наполнителя на физико-химические и *in vitro* биологические свойства полученных композиционных материалов;
5. Показана возможность применения трехмерного композита на основе поли(ϵ -капролактона), наполненного частицами модифицированной НКЦ, в качестве остеопластического материала.

Практическая значимость работы:

- Модифицированные полианионами частицы НКЦ, ОГ и АГ являются биосовместимыми, способны стимулировать минерализацию, а также являются термостабильными в диапазоне 3D-печати алифатических сложных полиэфигов, что позволяет их использовать в качестве наполнителя для получения композиционных материалов из расплавов указанного класса полимеров;
- Композиционные материалы на основе ПКЛ/ПЛЛА, содержащие модифицированные полианионами частицы НКЦ и производных графена, демонстрируют улучшение механических параметров материалов, способность к адгезии и пролиферации клеток, а также поддерживают остеогенное дифференцирование мезенхимальных стволовых клеток с образованием костной ткани;
- Полученные трехмерные композиционные матрицы демонстрируют возможность практического применения в качестве остеопластических материалов.

Обоснованность и достоверность результатов и выводов настоящей работы обеспечивается использованием современных методов синтеза и исследования полимеров и частиц, подтверждается хорошей воспроизводимостью всех полученных результатов, их согласованностью при использовании независимых методов исследования и согласованностью полученных результатов с имеющимися литературными данными.

Положения, выносимые на защиту:

- Предложенные методы химической модификации НКЦ функционализированными полианионами позволяют получить целевой продукт с высокой эффективностью прививки;
- Прививка «от поверхности» частиц аминированного и окисленного графена обеспечивает более эффективную модификацию частиц по сравнению с прививкой «на поверхности»;
- Использование модифицированных частиц НКЦ и производных графена приводит к улучшению распределения наполнителя в матрицах алифатических сложных полиэфигов, повышению механических свойств материала, эффективной клеточной адгезии и биоминерализации;
- Трехмерные матрицы на основе ПКЛ и модифицированных частиц НКЦ, а также аминированного графена демонстрируют механические параметры, сопоставимые с таковыми для трабекулярной костной ткани;
- Апробация разработанных композитов, полученных методом 3D-печати и содержащих модифицированную НКЦ в качестве наполнителя, продемонстрировала пригодность разработанных материалов для регенерации костной ткани в экспериментах *in vivo*.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и российских конференциях: XI, XII, XIV, XV Научно-техническая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «НЕДЕЛЯ НАУКИ» (Санкт-Петербург, Россия 2021, 2022, 2024, 2025); 4th International Conference «Modern Synthetic Methodologies for

Creating Drugs and Functional Materials» (Yekaterinburg, Russia 2020); International Bakeev Conference «Macromolecular Nanoobjects and Polymer Nanocomposites» (Moscow, Russia, 2020); XII, XIII International Conference on Chemistry for Young Scientists «MENDELEEV» (Saint-Petersburg, Russia, 2021, 2024); XII, XIV Научная конференция «ТРАДИЦИИ И ИННОВАЦИИ» (Санкт-Петербург, Россия 2021, 2023); The International Conference New Approaches To Biomaterial Development (Saint-Petersburg, Russia, 2021); Научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «ЛОМОНОСОВ» (Москва, Россия, 2022); XXXII Российская молодежная научная конференция (Екатеринбург, Россия, 2022); IV, V Байкальский материаловедческий форум (Улан-Удэ, Россия, 2022, 2025); Санкт-Петербургская конференция молодых ученых «Современные проблемы науки о полимерах» (Санкт-Петербург, Россия, 2022, 2023, 2025); XXVI, XXVIII Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (Нижний Новгород, Россия, 2023, 2025); XIX Международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения» (Нальчик, Россия, 2023); XXI Молодежная научная конференция «Функциональные материалы: синтез, свойства, применение» (Санкт-Петербург, Россия, 2023).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 32 печатные работы, включающие 6 статей, а также тезисы 26 докладов.

Личный вклад автора состоял в проведении экспериментальной работы по синтезу и модификации полимеров, модификации частиц на основе целлюлозы и производных графена амфифильными полианионами, получении композиционных материалов в виде пленок и 3D-матриц; исследовании полученных полимеров методами капиллярной вискозиметрии, спектрофотометрии, жидкостной хроматографии; исследовании модифицированных частиц методами ИК-спектроскопии, кондуктометрического титрования, ДРС и ЭФРС, исследовании композиционных материалов методами оптической и флуоресцентной микроскопии, в том числе, минерализации в модельных средах, проведении некоторых экспериментов с культурами клеток, исследовании деградации матричного полимера, а также непосредственном участии на всех этапах работы: постановке задач, анализе массива данных, полученного с использованием набора физико-химических, микроскопических и биологических методов, интерпретации и обобщении полученных результатов, подготовке докладов и публикаций.

Выполненная диссертационная работа **соответствует паспорту научной специальности** 1.4.7. Высокмолекулярные соединения (п. 2. Синтез олигомеров, в т. ч. специальных мономеров, связь их строения и реакционной способности; п. 4. Химические превращения полимеров – внутримолекулярные и полимераналоговые, их следствия; п. 9. Целенаправленная разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники).

Структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы (387 наименований) и благодарности. Работа изложена на 174 страницах и включает 20 таблиц и 70 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цели и задачи работы, отражены научная новизна и практическая значимость тематики исследования, изложены положения, выносимые на защиту.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

Обзор литературы состоит из пяти разделов. В первом разделе описаны методы получения 3D-матриц, а также характеристики и свойства биосовместимых и биodeградируемых полимеров для получения остеопластических материалов. Второй и третий разделы посвящены частицам микро- и нанокристаллической целлюлозы и производных графена, а именно способам их

получения, физико-химическим и биологическим свойствам, методам модификации. В четвертом разделе представлен обзор современного состояния исследований в области композиционных материалов для остеопластики. В последнем разделе приведены заключительные замечания, обоснование выбора объектов исследования и сформулирована постановка задач диссертации.

ГЛАВА 2. Материалы и методы

Глава содержит описание исходных материалов, методики синтеза полимеров (ПКЛ, ПЛЛА, амфифильных производных ПГлу), модификации полианионов (гепарина, производных ПГлу) и частиц (НКЦ, АГ и ОГ) полианионами (ПА), методы исследования полимеров и модифицированных наполнителей, получение и изучение материалов в виде пленок и 3D-матриц, а также методы исследования биологических свойств оптимальных материалов *in vivo*.

ГЛАВА 3. Результаты и обсуждение

3.1 Синтез алифатических сложных полиэфиров: ПКЛ и ПЛЛА

Синтез алифатических сложных полиэфиров проводился путем полимеризации с раскрытием цикла соответствующих мономеров в присутствии октоата олова(II) в качестве катализатора и бензилового спирта в качестве инициатора. Молекулярно-массовые характеристики ПКЛ и ПЛЛА определяли методом ЭЖХ, а характеристические вязкости ($[\eta]$) — методом капиллярной вискозиметрии (Таблица 1). Условия реакции подбирались таким образом, чтобы получить полимеры с близкими значениями $[\eta]$, поскольку именно этот параметр оказывает существенное влияние на процесс получения пленок методом полива из раствора, а также позволяет корректно сравнивать характеристики и свойства материалов, полученных на основе различных полимеров.

Таблица 1 – Характеристики полученных алифатических сложных полиэфиров

Полимер	M_w	M_n	\bar{D}	$[\eta]$, дл/г
ПКЛ	120 000	70 000	1.71	1.3
ПЛЛА	101 000	57 000	1.77	1.1

3.2 Синтез и модификация амфифильных производных поли(глутаминовой кислоты)

Для синтеза амфифильного производного поли(глутаминовой кислоты) (ПГлу) мономер (*N*-карбоксиянгидрид γ -бензил-*L*-глутаминовой кислоты (*N*-КА γ -бензил-Глу)) получали методом циклизации γ -бензил-*L*-глутаминовой кислоты за счет взаимодействия с трифосгеном (Рисунок 1А). Полимеризацию проводили с использованием *n*-гексиламина (ГексNH₂) в качестве инициатора при различных [M]/[I] (Рисунок 1Б, Таблица 2). Среднечисловую молекулярную массу (M_n), степень полимеризации (DP) и остаточное содержание –O–CH₂Ph защитных групп синтезированных образцов определяли методом ¹H ЯМР спектроскопии (Таблица 2).

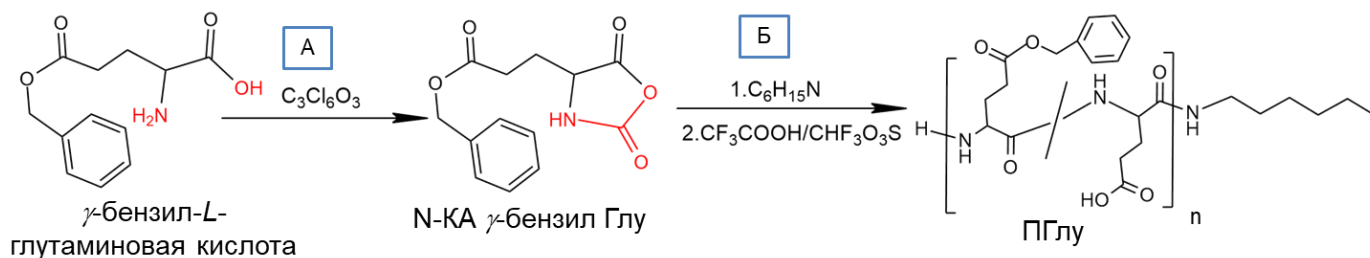


Рисунок 1 – Схема синтеза амфифильного производного поли(глутаминовой кислоты)

Для улучшения адгезии клеток получаемых композитов проводили пост-полимеризационную модификацию ПГлу лизином путём активации части –COOH групп ПГлу (1-гидроксибензотриазол и 1,3-диизопропилкарбодиимид) с последующей реакцией полученных активированных сложных эфиров с α -NH₂ группой *N*-(трет-бутоксикарбонил)- ϵ -лизина (Лиз(Вос)) и дальнейшим удалением защитных групп. Содержание Лиз определяли ¹H ЯМР спектроскопией (Рисунок 2, Таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики образцов ПГлу и ПГлу-Лиз

Образец	[M]/[I]	M_n	DP	Содержание (моль%)	
				-O-CH ₂ Ph	Лиз
ПГлу ₃₅ *	100/1	4 300	35	10	—
ПГлу ₅₆ *	150/1	8 400	56	21	—
ПГлу ₅₆ -Лиз	150/1	8 800	56	21	5

* ПГлу₃₅/ПГлу₅₆ – ПГлу, содержащая среднее количество звеньев, равное 35 и 56, соответственно

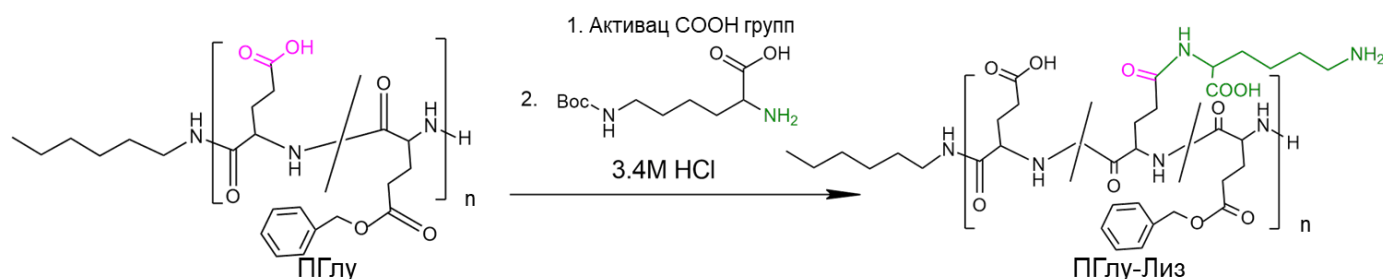


Рисунок 2 – Схема модификации ПГлу лизином

3.3 Модификация гепарина

Для модификации гепарина (Геп) первоначально в его структуру вводили *N*-(трет-бутоксикарбонил)-этилендиамин (ЭДА(Вос)) за счет реакции свободной -NH₂ группы ЭДА(Вос) с частью предварительно активированных -COOH групп Геп (*N*-гидроксисукцинимид и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид) (Рисунок 3А). Аналогичным образом проводили модификацию Геп-ЭДА(Вос) ГексNH₂ (Рисунок 3Б) и затем удаляли Вос-защитные группы ЭДА (Рисунок 3В). ЭДА в структуре Геп является аминоксодержащим линкером, необходимым для дальнейшей модификации НКЦ, тогда как ГексNH₂ обеспечивает амфифильные свойства гидрофильному Геп.

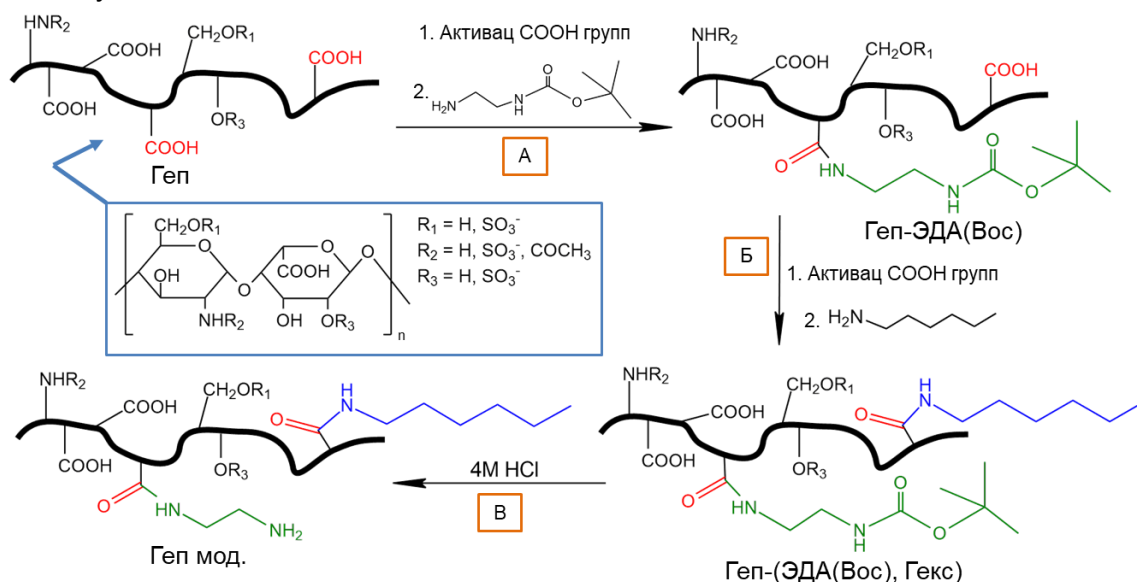


Рисунок 3 – Схема модификации гепарина

Успешность модификации Геп (Геп мод.) и содержание ЭДА и ГексNH₂ подтверждали ¹H ЯМР спектроскопией, молекулярно-массовые характеристики определяли методом ЭЖХ (Таблица 3).

Таблица 3 – Характеристики исходного и модифицированного гепарина

Образец	ЭЖХ			Содержание (моль%)	
	M_w	M_n	D	ЭДА	ГексNH ₂
Геп	38 800	28 100	1.4	—	—
Геп мод.	23 600	14 700	1.6	9	4

3.4 Модификация и характеристика нанокристаллической целлюлозы

Для модификации частиц НКЦ использовали подход химической иммобилизации предварительно синтезированных полимеров на поверхности частиц (метод прививки «на поверхности») с применением нескольких стратегий (**Рисунок 4**). В данном случае использовалось разное соотношение полианионов (ПА) к НКЦ (**Таблица 4**).

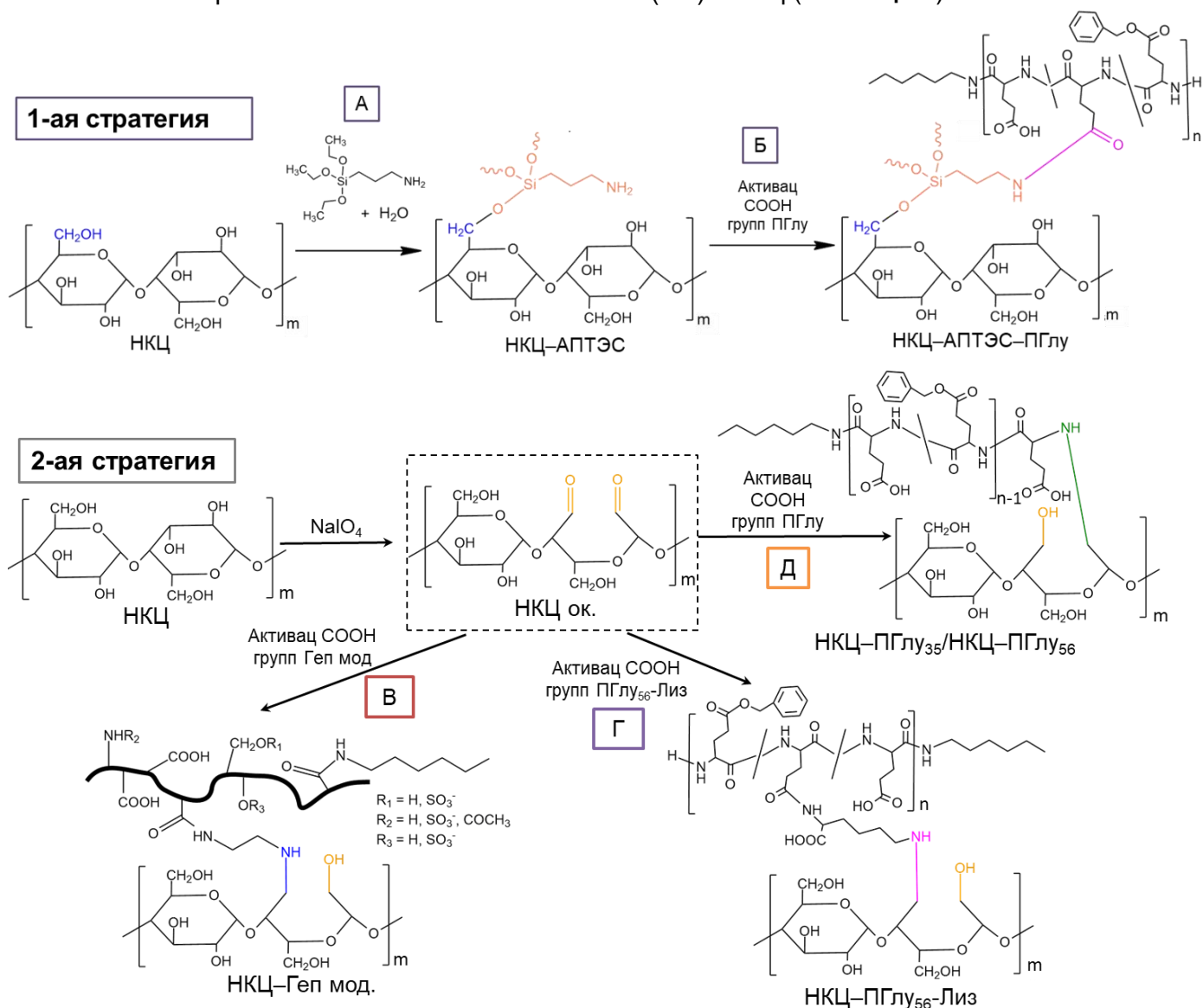


Рисунок 4 – Схемы модификации частиц НКЦ

Первая стратегия заключалась в предварительном формировании $-\text{NH}_2$ групп на поверхности НКЦ путем функционализации (3-аминопропил)триэтоксисиланом (АПТЭС) (**Рисунок 4А**) и последующей их реакцией с активированными $-\text{COOH}$ группами ПГлу (1-гидроксибензотриазол и 1,3-диизопропилкарбодиимид) (**Рисунок 4Б**). Силанизация целлюлозы предложена с целью улучшения межфазной адгезии между гидрофильной НКЦ и гидрофобной матрицей полимера.

Вторая стратегия заключалась в предварительном окислении вицинальных диолов в звеньях глюкозы, образующих макромолекулы целлюлозы, до двух альдегидных групп, с последующим их взаимодействием с $-\text{NH}_2$ группами выбранных ПА и восстановлением образовавшихся оснований Шиффа NaBH_4 (**Рисунок 4, 2-ая стратегия**). Модификация НКЦ ПГлу проходила с участием концевой $-\text{NH}_2$ группы полиаминокислоты (**Рисунок 4Д**). В случае использования для модификации НКЦ ПГлу₅₆-Лиз реакция может протекать как по концевой, так и по ϵ -аминогруппам лизина (**Рисунок 4Г**). Аналогично проводили модификацию НКЦ Геп мод. (**Рисунок 4В**).

Окисление НКЦ (НКЦ ок.) было подтверждено методами ИК-спектроскопии (1728 см^{-1} , вал. $\text{C}=\text{O}$ альдегида) и качественной реакцией с помощью реактива Шиффа.

Модификация НКЦ ПА была подтверждена методами ИК– и твердотельной ^{13}C ЯМР спектроскопии. Все образцы были проанализированы методом ДРС и ЭФРС с целью мониторинга изменений гидродинамического диаметра (D_h) и ζ -потенциала в результате модификации (Таблица 4). Силанизация НКЦ способствовала незначительному увеличению D_h и ζ -потенциала за счет появления $-\text{NH}_2$ групп на поверхности частиц. Последующая модификация НКЦ–АПТЭС ПГлу приводила к сильному увеличению D_h и снижению ζ -потенциала за счет появления на поверхности $-\text{COOH}$ групп ПГлу. Аналогично модификация НКЦ ПГлу/ПГлу₅₆-Лиз/Геп мод. приводила к увеличению D_h и снижению ζ -потенциала. Таким образом, изменение характеристик модифицированных частиц НКЦ косвенно подтверждает успешность проведения модификации.

Таблица 4 – Физико-химические характеристики и индексы термостойкости исходной и модифицированной НКЦ

Образец	НКЦ/ПА, (масс/масс)	ДРС		ЭФРС		ТГА t_5 (°C)
		D_h (нм)	ζ -потенциал, (мВ)	Q (мг/г)		
НКЦ	—	128 ± 7	-23 ± 2	—	212 ± 4	
НКЦ–АПТЭС	—	274 ± 23	-13 ± 5	—	181 ± 4	
НКЦ–АПТЭС–ПГлу ₅₆ №1	1/0.25	1412 ± 129	-33 ± 6	118 ± 8	218 ± 4	
НКЦ–АПТЭС–ПГлу ₅₆ №2	1/0.75	1151 ± 219	-37 ± 5	526 ± 42	—	
НКЦ–ПГлу ₃₅ №1	1/0.25	217 ± 48	-31 ± 6	180 ± 12	221 ± 4	
НКЦ–ПГлу ₃₅ №2	1/0.75	227 ± 33	-35 ± 5	547 ± 44	—	
НКЦ–ПГлу ₅₆	1/0.25	234 ± 30	-35 ± 6	137 ± 10	—	
НКЦ–ПГлу ₅₆ -Лиз	1/0.25	364 ± 68	-42 ± 7	127 ± 9	216 ± 4	
НКЦ–Геп мод №1	1/0.25	255 ± 27	-27 ± 5	153 ± 10	249 ± 5	
НКЦ–Геп мод №2	1/0.75	482 ± 32	-29 ± 6	390 ± 22	—	

Количество ПА (ПГлу₃₅/ПГлу₅₆/ПГлу₅₆-Лиз), связанного с поверхностью НКЦ (Q), рассчитывали как разницу между исходным и непрореагировавшим количеством ПА (УФ-спектрометрически, $\lambda = 265$ нм). (Таблица 4). Модификация НКЦ ПГлу₃₅ и ПГлу₅₆ (НКЦ/ПА = 1/0.25, масс/масс) по концевой аминогруппе показала, что иммобилизационная емкость была выше при прививке более коротких цепей ПА (72 % для ПГлу₃₅ и 55 % для ПГлу₅₆). Сниженная эффективность модификации ПГлу₅₆ может быть связана как с более низким молярным содержанием $-\text{NH}_2$ групп в данном полимере по сравнению с ПГлу₃₅ при той же массе навески, взятой для реакции, так и с меньшей пространственной доступностью концевой аминогруппы ПГлу₅₆. Использование начального соотношения НКЦ/ПА = 1/0.75 (образец НКЦ–ПГлу₃₅ №2) способствовало получению продукта с бóльшим содержанием ПА и увеличению эффективности модификации до 73 %. Модификация НКЦ ПГлу₅₆-Лиз не привела к увеличению эффективности иммобилизации (51 %) и полученные данные сопоставимы с эффективностью функционализации для ПГлу₅₆. При этом важно отметить, что при иммобилизации ПГлу по концевой аминогруппе прививка носит характер одностороннего прикрепления полимерной цепи, а при иммобилизации ПГлу-Лиз возможно прикрепление ПА не только за счет концевой, но и за счет боковых аминогрупп лизина, что может сопровождаться многоточечным связыванием ПА с поверхностью частиц НКЦ и приводить к блокированию активных функциональных групп поверхности.

Количество Геп мод., связанного с поверхностью НКЦ (Таблица 4), рассчитывали аналогично иммобилизации ПГлу (УФ-спектрометрически, после завершения реакции $-\text{NH}_2$ групп Геп мод. с 2,4,6-тринитробензол-1-сульфоной кислотой, $\lambda = 422$ нм). Эффективность модификации в случае иммобилизации Геп мод. составила 61 % (НКЦ/Геп мод. = 1/0.25) и 52 % (НКЦ/Геп мод. = 1/0.75). В целом, полученные значения эффективности модификации оказались в том же диапазоне, что и значения для ПГлу₅₆/ПГлу₅₆-Лиз, но существенно ниже, чем для ПГлу₃₅.

Кроме того, все образцы НКЦ были исследованы методом ТГА с определением температур деструкции, соответствующих 5 % потери массы (t_5) (Таблица 4). Данный параметр является

важным для получения композиционных 3D-матриц путем послойного наплавления. Частицы, выбранные в качестве наполнителей, должны обладать термической стабильностью, поскольку температуры плавления полимера варьируются в диапазоне 55 °С – 70 °С (ПКЛ) и 170 °С – 200 °С (ПЛЛА). Таким образом, согласно данным ТГА (**Таблица 4**), t_5 всех полученных образцов модифицированной НКЦ >200 °С, что позволяет использовать их в качестве наполнителей для получения композиционных материалов на основе выбранных полиэфигов.

3.5 Производные графена

В отличие от гидрофильной НКЦ, модификация ОГ/АГ может быть проведена в органических растворителях, поэтому, помимо прививки «на поверхности», использовали подход прививки полимера от поверхности частиц путём полимеризации *in situ* (метод прививки «от поверхности») (**Рисунок 5**).

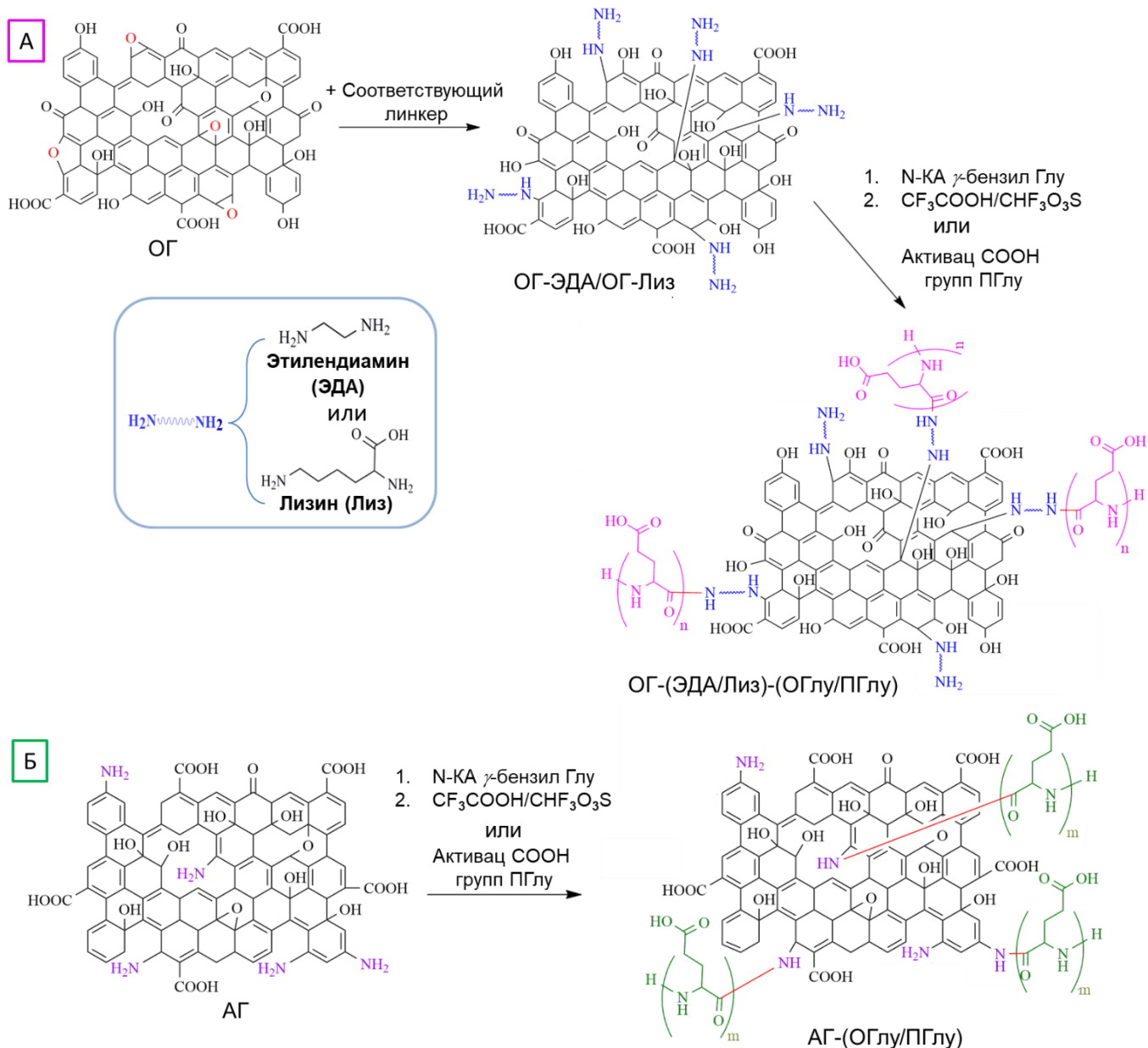


Рисунок 5 – Схемы модификации производных графена

Для модификации ОГ/АГ путем прививки «на поверхности» использовали предварительно синтезированную ПГлу, а в случае прививки «от поверхности» проводили полимеризацию N-КА γ -бензил-Глу, инициируемую $-\text{NH}_2$ группами поверхности производных графена. В отличие от частиц АГ, на поверхности которых имеются собственные первичные аминогруппы, частицы ОГ требуют дополнительной функционализации, поэтому на первом этапе модификации ОГ в структуру вводились аминокислотные линкеры — ЭДА(Вос) или лизин(Вос) (**Рисунок 5А**).

Успешность модификации ОГ/АГ была подтверждена методом ИК-спектроскопии. В спектрах детектировались характеристические полосы деф. и вал. колебаний N–H и N–C=O (амид II) (1513 см^{-1} и 1456 см^{-1} , соответственно), а также вал. колебаний C–N (1273 см^{-1} и 1171 см^{-1}).

При прививке «от поверхности» варьировали разные условия проведения реакции, а именно, время и температуру, а также соотношение [N-КА]/[-NH₂] (Таблица 5). В случае прививки «на поверхности» варьировали содержание активированных –COOH групп ПГлу (Таблица 6).

Для оценки эффективности модификации АГ/ОГ ПГлу полученные образцы подвергались гидролизу в жестких условиях (6 М HCl, 120 °С, 50 ч) для достижения полного гидролиза полипептида до свободных аминокислот, с последующим количественным определением их содержания в гидролизате с помощью количественного ВЭЖХ анализа (Q) (Таблица 5–6).

Таблица 5 – Условия модификации частиц ОГ/АГ, а также количество ПГлу, привитой на поверхности частиц ОГ/АГ методом прививки «от поверхности»

Частицы	Линкер	№	Условия			Q (ПГлу) (мг/г частиц)	DP*
			T (°C)	t (ч)	[N-КА]/[-NH ₂]		
ОГ	ЭДА	–	35	72	3	5 ± 1	—
		1	35	48	125	8 ± 1	4
		2	35	72	125	12 ± 1	6
	Лиз	3	45	72	125	13 ± 1	7
		4	45	72	370	19 ± 2	9
		5	45	72	625	25 ± 3	12
АГ	—	6	55	72	625	74 ± 7	35
		1	35	48	7	30 ± 3	—
		2	35	72	7	37 ± 4	—
		3	45	72	7	51 ± 5	—
		4	55	72	45	105 ± 7	

* Рассчитано по соотношению Глу/Лиз (моль/моль)

Согласно полученным данным (Таблица 5), в случае прививки «от поверхности» ОГ/АГ наблюдается повышение количества привитой ПГлу с увеличением времени, температуры и количества N-КА γ-бензил-Глу в реакционной среде. В частности, для ОГ–Лиз при увеличении времени реакции до 72 ч наблюдается повышение эффективности модификации на 57 %; при увеличении температуры реакции до 45 °С — на 8 %; при изменении соотношения [N-КА]/[-NH₂] до 370 и 625 — на 46 % и 92 %, соответственно. Увеличение температуры реакции до 55 °С (при 72 ч, 625) также способствовало росту количества привитой ПГлу ~ в 3 раза. Аналогичная тенденция наблюдалась и в случае модификации АГ, а именно при увеличении времени реакции до 72 ч количество привитой на поверхности ПГлу возрастало на 23 %; при повышении температуры до 45 °С — на 38 %, а при увеличении соотношения [N-КА]/[-NH₂] до 45 — на 105 %.

Таблица 6 – Условия модификации частиц ОГ/АГ, а также количество ПГлу, привитой на поверхности частиц ОГ/АГ методом прививки «на поверхности»

Частицы	Линкер	№	Условия			Q (ПГлу) (мг/г частиц)
			T (°C)	t (ч)	Степень актив. –COOH ПГлу (%)	
ОГ	ЭДА	—	25	3	100	3.2 ± 0.3
		7	25	3	100	6.0 ± 0.6
	Лиз	8	25	3	30	5.7 ± 0.5
АГ	—	5	25	3	100	10 ± 2

Метод прививки «на поверхности» показал значительно более низкую эффективность модификации, в сравнении с прививкой «от поверхности» (Таблица 6), что может быть связано с различным расположением полимерных цепей на поверхности ОГ/АГ. В случае прививки «от поверхности» имеет место одноточечное связывание полимера с поверхностью, тогда как в

случае прививки «на поверхности» может происходить многоточечное связывание одной макромолекулы ПГлу с несколькими функциональными группами поверхности, приводящее к блокированию части поверхности и снижению иммобилизационной емкости. При этом, степень активации -COOH групп в ПГлу не оказывала влияния на эффективность модификации.

Кроме того, на количество прививаемого полимера на поверхность ОГ, существенное влияние оказывает используемый аминоклинкер (Таблица 5–6). Так, при использовании в качестве линкера ЭДА, в обоих случаях прививки в тех же условиях, детектируется более низкое содержание Глу в образце, по сравнению с Лиз, что может быть связано с лучшей доступностью ϵ -аминогруппы лизина за счет ее большего отдаления от поверхности частиц ОГ.

Также методом количественного ВЭЖХ анализа было определено среднее содержание Лиз на поверхности ОГ (2.2 ± 0.3 мг/г), что позволило рассчитать степень полимеризации в условиях прививки «от поверхности» (Q) (Таблица 5). Усреднённая (поли)пептидная цепь включала от 4 до 35 звеньев Глу, следовательно, образцы №1–5 модифицированного ОГ содержали на своей поверхности олигомеры глутаминовой кислоты (ОГлу), а образец №6 – ПГлу.

Все образцы ОГ/АГ были проанализированы методами ДРС, ЭФРС и ТГА (Таблица 7). Частицы ОГ характеризовались D_h около 700 нм и отрицательным ζ -потенциалом благодаря присутствию на поверхности -COOH/-ОН групп. Модификация ОГ ЭДА(Вос)/Лиз(Вос) способствовала очевидной агрегации частиц в водной среде. Удаление Вос-защиты приводило к увеличению стабильности, обеспечивая D_h , близкий к 860 нм, и повышая ζ -потенциал за счет свободных -NH₂ групп ЭДА/Лиз. Дальнейшая прививка «от поверхности» приводила к снижению ζ -потенциала, что косвенно подтверждает успешную модификацию поверхности ОГлу/ПГлу. В случае прививки «на поверхности» детектировались более крупные частицы и незначительные изменения ζ -потенциала. Для АГ значения D_h и ζ -потенциал были близки к таковым для ОГ.

Таблица 7 – Характеристики исходных и модифицированных производных графена

Образец	ДРС	ЭФРС	ТГА	
	D_h (нм)	ζ -потенциал (мВ)	t_5 (°C)	t_{10} (°C)
ОГ	725 ± 33	-43 ± 7	182 ± 4	208 ± 4
ОГ-ЭДА(Вос)	1469 ± 143	-40 ± 8	—	—
ОГ-ЭДА	869 ± 63	-38 ± 8	188 ± 4	208 ± 4
ОГ-ЭДА-ОГлу*	589 ± 29	-39 ± 3	174 ± 3	191 ± 4
ОГ-ЭДА-ПГлу**	922 ± 43	-41 ± 1	165 ± 3	184 ± 4
ОГ-Лиз(Вос)	1547 ± 195	-42 ± 9	—	—
ОГ-Лиз	861 ± 34	-34 ± 6	186 ± 4	212 ± 4
ОГ-Лиз-ОГлу №1*	518 ± 26	-36 ± 7	163 ± 3	192 ± 4
ОГ-Лиз-ПГлу №6*	638 ± 43	-45 ± 7	160 ± 3	179 ± 4
ОГ-Лиз-ПГлу №7**	898 ± 36	-41 ± 2	172 ± 3	192 ± 4
АГ	665 ± 154	-39 ± 7	197 ± 4	290 ± 6
АГ-ОГлу №1*	893 ± 119	-40 ± 5	245 ± 5	281 ± 6
АГ-ПГлу №4*	752 ± 101	-57 ± 9	234 ± 5	283 ± 6
АГ-ПГлу №5**	786 ± 103	-43 ± 8	206 ± 4	326 ± 7

* – прививка «от поверхности»; ** – прививка «на поверхности»

Анализ данных ТГА (Таблица 7) для модифицированных АГ показывает, что температуры деструкции >200 °C, что позволяет использовать такие частицы в качестве наполнителей для ПКЛ и ПЛЛА, в отличие от ОГ, для которых t_5 варьируется от 160 °C до 172 °C, что ограничивает использование таких частиц в качестве наполнителей для ПЛЛА.

Морфология ОГ/АГ до и после модификации была исследована методом СЭМ (Рисунок 6). В случае ОГ образцы демонстрируют типичную для частиц структуру – пластинчатую с гладкой

поверхностью и низкой степенью складчатости. Причём модификация ОГ не оказала влияния на морфологию частиц. Однако, в случае ОГ–Лиз–ПГлу №6 чешуйки стали менее контрастными, а границы стали более гладкими и размытыми, что является следствием появления достаточно большого количества алифатического углеводорода на поверхности ОГ. Данный эффект не наблюдается для ОГ–Лиз–ПГлу №7, что связано с низкой эффективностью модификации (Таблица 6). В случае АГ, образцы демонстрируют гофрированную структуру с выраженными складками и морщинами, что связано с искажением графенового слоя –NH₂ группами, сгруппированными в ряды, а также их взаимодействием с остаточными кислородсодержащими группами, что заметно отличает их от частиц ОГ. Как и в случае ОГ–Лиз–ПГлу №6, для АГ–ПГлу №4, наблюдается снижение контрастности, размытие и сглаживание границ чешуек и их поверхности, что связано с появлением на поверхности алифатического углеводорода ПГлу.

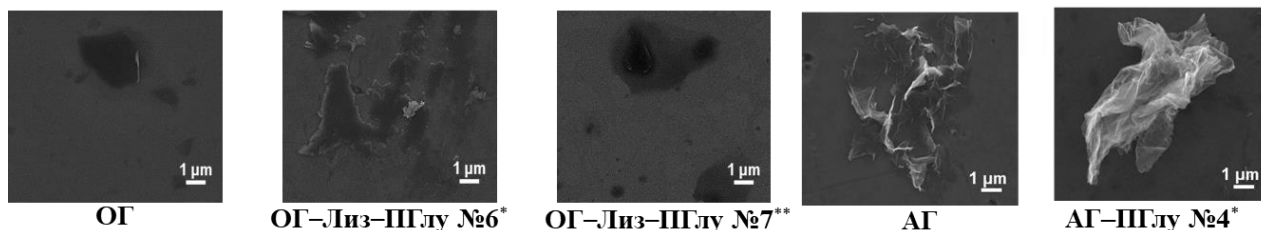


Рисунок 6 – Микрофотографии СЭМ для частиц ОГ/АГ до и после модификации

Дополнительно, для подтверждения модификации, определяли количество карбоксильных групп на поверхности частиц методом кондуктометрического титрования. Согласно расчетам, концентрация –COOH групп на поверхности ОГ и ОГ–Лиз–ПГлу №6 составляет 2.27 ± 0.02 и 2.44 ± 0.03 ммоль/г, соответственно, а для АГ и АГ–ПГлу №4 — 0.77 ± 0.07 и 1.27 ± 0.11 ммоль/г, соответственно, что согласуется с результатами измерения значений ζ -потенциала (Таблица 7).

Кроме того, элементный анализ образцов показал, что содержание N, C и соотношение C/N в АГ составляет 4.0 ± 0.1 %; 78.2 ± 0.2 % и 19.6, соответственно, а в АГ–ПГлу №4 — 4.7 ± 0.1 %; 76.4 ± 0.2 % и 16.3, соответственно, что подтверждает успешное проведение модификации.

РФЭС С 1s региона деблокированного образца АГ–ПГлу показывает снижение интенсивности пика C–C (285.1 эВ) в сочетании с перераспределением относительного содержания карбоксиллов и карбониллов (289.1 и 288.2 эВ, соответственно), по сравнению с образцом АГ–ПГлу(–O–CH₂Ph), что свидетельствует об успешном удалении защитных групп ПГлу. Это также подтверждается спектром O 1s, в котором наблюдается увеличение пика O–H (532.6 эВ), с уменьшением пика O=C (531.1 эВ), говорящем о переходе от карбонилированных к карбоксилированным структурам.

Таким образом, полученные данные доказывают успешное проведение модификации ОГ/АГ.

3.6 Получение композиционных плёнок и изучение их механических параметров и свойств

На основе ПКЛ/ПЛЛА и частиц НКЦ/ОГ/АГ были изготовлены плёнки путём полива раствора полимера или дисперсии наполнителя в растворе полимера на целлофановую подложку с последующим испарением растворителя. Плёнки без наполнителя являлись стандартами контроля влияния частиц на характеристики получаемых композитов. Цифры в названии образцов соответствуют весовому проценту наполнителя по отношению к массе полиэфира.

Механические испытания всех полученных плёнок были проведены в условиях одноосного растяжения ленточных образцов с определением модуля упругости (E), предела пластичности (σ_n) и прочности (σ_p), а также предельной деформации до разрушения (ε_p).

3.6.1 Плёнки на основе ПЛЛА и частиц НКЦ

Для получения композиционных материалов на основе ПЛЛА в качестве наполнителей использовали НКЦ и НКЦ–ПГлу₃₅. В качестве примера представлены плёнки, содержащие 15 масс% наполнителя. Морфология полученных плёнок была изучена методами микроскопии. Как видно из представленных данных, для плёнок, содержащих НКЦ (строка 2), наблюдается

присутствие крупных агрегатов по сравнению с композитами, содержащими НКЦ–ПГлу₃₅ (**строка 3**). Поляризационная микроскопия плёнки без наполнителя демонстрирует наличие большого количества сферолитов, свидетельствующих о кристалличности, характерной для ПЛЛА (**Рисунок 7Б1**). Введение в матрицу полимера НКЦ приводит к нарушению непрерывной структуры сферолитов (**Рисунок 7Б2**). При этом, введение НКЦ–ПГлу₃₅ способствует лучшему распределению наполнителя в массе ПЛЛА. СЭМ плёнок показала увеличение шероховатости поверхности получаемых материалов при добавлении НКЦ (**Рисунок 7В2**). В то же время, добавление НКЦ–ПГлу₃₅ приводило к формированию более однородной структуры поверхности получаемых материалов (**Рисунок 7В3**). Таким образом, модификация частиц позволила улучшить совместимость гидрофильной НКЦ с гидрофобной матрицей ПЛЛА.

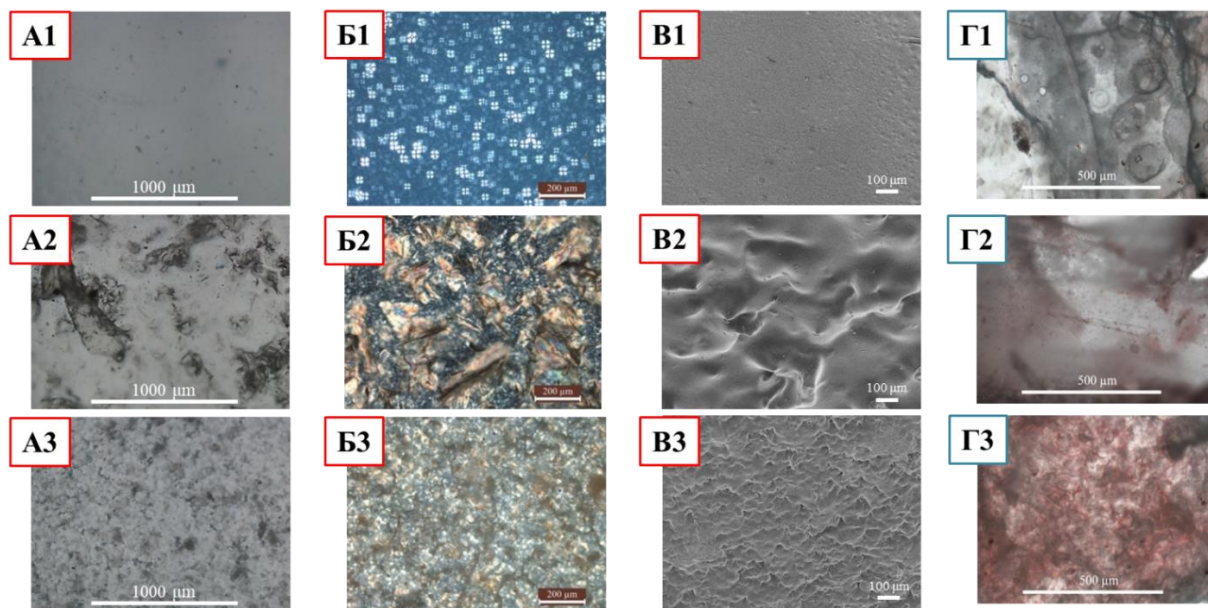


Рисунок 7 – Микрофотографии плёнок на основе ПЛЛА: **столбец: А** – оптическая микроскопия; **Б** – поляризационная микроскопия; **В** – СЭМ; **Г** – оптическая микроскопия после окрашивания ализариновым красным С; **строка: 1** – ПЛЛА; **2** – ПЛЛА+15%НКЦ; **3** – ПЛЛА+15%НКЦ–ПГлу₃₅

Результаты механических испытаний полученных плёнок, содержащих НКЦ и НКЦ–ПГлу₃₅, демонстрируют недостижение предела пластичности и снижение предельной деформации до разрушения, что говорит о получении более хрупких материалов по сравнению с плёнкой без наполнителя (**Таблица 8**). Также, введение НКЦ в ПЛЛА приводит к ухудшению всех параметров материалов, что может быть связано с неоднородностью композита (**Рисунок 7А2–В2**). В свою очередь, для плёнок, содержащих НКЦ–ПГлу₃₅, наблюдается улучшение механических свойств по сравнению с материалами ПЛЛА+НКЦ, а модуль упругости соответствует параметру для ненаполненного ПЛЛА. Таким образом, модификация НКЦ приводит к снижению агрегации наполнителя в полимере и, тем самым, оказывает положительное влияние на механические свойства получаемых композитов, по сравнению с материалами, содержащими нативную НКЦ.

Таблица 8 — Механические свойства плёнок на основе ПЛЛА (отливка плёнок из хлороформа)

Образец	E (МПа)	σ_n (МПа)	σ_p (МПа)	ε_p (%)
ПЛЛА	2990 ± 150	33 ± 3	58 ± 3	12 ± 2
ПЛЛА+5%НКЦ	1610 ± 110	—	19 ± 2	4 ± 1
ПЛЛА+10%НКЦ	1690 ± 140	—	17 ± 2	4 ± 1
ПЛЛА+15%НКЦ	1420 ± 80	—	13 ± 1	3 ± 1
ПЛЛА+5%НКЦ–ПГлу ₃₅	2820 ± 210	—	39 ± 2	4 ± 1
ПЛЛА+10%НКЦ–ПГлу ₃₅	2920 ± 50	—	31 ± 2	3 ± 1
ПЛЛА+15%НКЦ–ПГлу ₃₅	2940 ± 190	—	28 ± 3	3 ± 1

С целью изучения способности материалов к минерализации проводили инкубирование плёнок в модельных средах, содержащих ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} (водно-солевая среда для модельной минерализации). Спустя 9 месяцев циклического инкубирования образцов, плёнки окрашивали специфическим к кальцию красителем – ализариновым красным С для визуализации возможных минеральных отложений. Как видно из микрофотографий (**Рисунок 7Г**), плёнка ПЛЛА без наполнителя не окрашивалась красителем, что указывает на отсутствие отложений кальция на поверхности материала. Для плёнок с добавлением НКЦ наблюдается слабое окрашивание некоторых зон, что может быть связано с отрицательным зарядом НКЦ, обеспечивающим связывание Ca^{2+} . Однако, при использовании в качестве наполнителя НКЦ–ПГлу₃₅ наблюдается выраженное увеличение интенсивности окрашивания. Таким образом, модификация НКЦ ПГлу способствует улучшению минерализации получаемых композиционных материалов.

Кроме того, в процессе изучения минерализации, часть образцов была выведена из эксперимента через 3 месяца для оценки гидролитической деградации ПЛЛА. Молекулярно-массовые характеристики определяли методом ЭЖХ (**Таблица 9**). Спустя 3 месяца инкубирования пленок в модельной водно-солевой среде, наблюдалось изменение среднemasсовой и среднечисловой молекулярных масс (ММ) ПЛЛА ~ на 60 %, что свидетельствует о быстрой деградации полимера и согласуется с литературными данными (**Таблица 1 и 9**). Сравнение ММ композитов с ММ ПЛЛА без наполнителя не выявило значительных различий в снижении ММ, однако, наблюдалось увеличение дисперсности ПЛЛА из композитов на 5 % – 7 %. Из литературных данных известно, что использование гидрофильных наполнителей зачастую ускоряет деградацию материалов на основе алифатических сложных полиэфиров. Однако, в данном случае влияние НКЦ на скорость гидролитической деградации ПЛЛА незначительно из-за собственного быстрого гидролиза полиэфира.

Таблица 9 — Деградация ПЛЛА через 3 месяца инкубирования образцов в водно-солевой среде

Образец ПЛЛА	M_w	M_n	\bar{D}
без наполнителя	38 500	22 500	1.72
содержащий 15%НКЦ	39 900	22 000	1.81
содержащий 15%НКЦ–ПГлу ₃₅	37 900	20 500	1.85

Исходя из полученных данных, можно заключить, что модификация НКЦ ПГлу приводит к получению более однородных материалов с улучшенными механическими свойствами и способных обеспечивать формирование выраженных минеральных отложений, по сравнению с использованием нативной НКЦ.

3.6.2 Плёнки на основе ПКЛ и частиц НКЦ

В качестве наполнителей для ПКЛ использовали НКЦ. Морфология плёнок была изучена методами микроскопии, и в качестве примера представлены материалы, содержащие 15 масс% частиц (**Рисунок 8А–В**). Введение НКЦ в матрицу ПКЛ сопровождалось образованием крупных агломератов, тогда как использование в качестве наполнителя НКЦ–ПГлу₃₅ приводило к более однородному распределению частиц.

Результаты механических испытаний плёнок на основе ПКЛ (**Таблица 10**) демонстрируют, что при добавлении НКЦ наблюдается снижение всех параметров, по сравнению с материалами без наполнителя и с добавлением НКЦ–ПГлу₃₅, что обусловлено агрегацией частиц (**Рисунок 10**). Однако, при сравнении характеристик плёнок, содержащих НКЦ–ПГлу₃₅, с нативной плёнкой ПКЛ можно видеть увеличение модуля упругости ~ на 38 %, тогда как остальные параметры остаются примерно на том же уровне. На основании полученных данных можно заключить, что введение НКЦ–ПГлу₃₅ в количестве 10 масс% является наиболее оптимальным, поэтому в дальнейшем для изготовления композиционных плёнок на основе ПКЛ, содержащих НКЦ, модифицированную другими ПА, количество наполнителя было постоянным и равным 10 масс%.

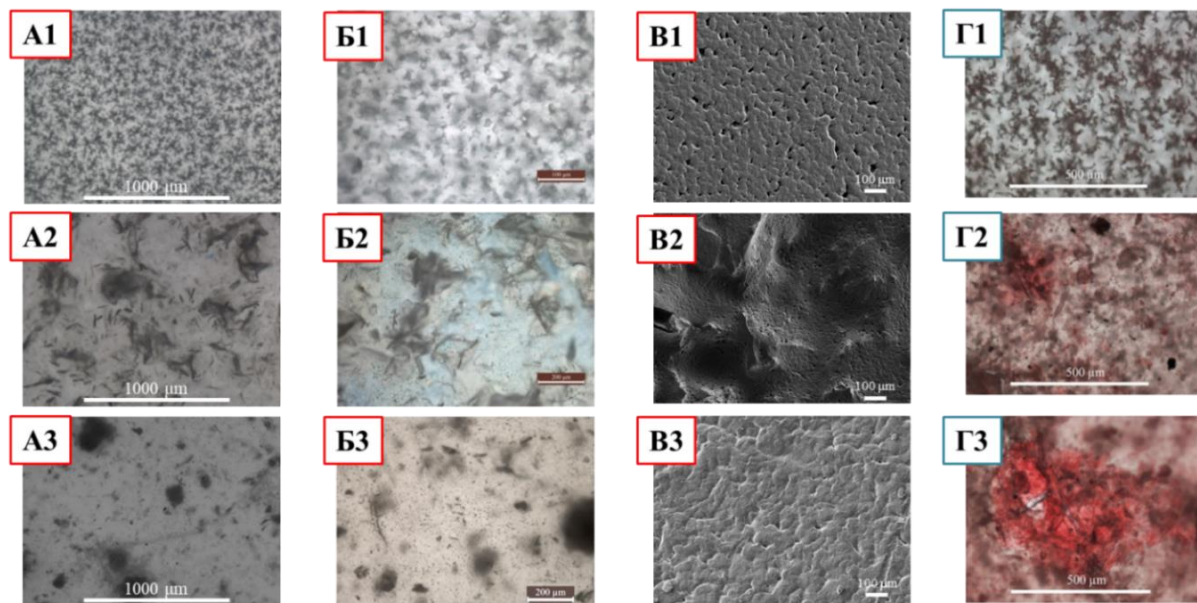


Рисунок 8 – Микрофотографии плёнок на основе ПКЛ: **столбец: А** – оптическая микроскопия; **Б** – поляризационная микроскопия; **В** – СЭМ; **Г** – оптическая микроскопия после окрашивания ализариновым красным С; **строка: 1** – ПКЛ; **2** – ПКЛ+15%НКЦ; **3** – ПКЛ+15%НКЦ–ПГлу₃₅

Таблица 10 — Механические свойства плёнок на основе ПКЛ (отливка плёнок из хлороформа)

Образец	E (МПа)	σ_n (МПа)	σ_p (МПа)	ε_p (%)
ПКЛ	396 ± 17	18 ± 1	18 ± 1	25 ± 5
ПКЛ+5%НКЦ	352 ± 28	11 ± 1	8 ± 1	19 ± 5
ПКЛ+10%НКЦ	285 ± 16	7 ± 1	6 ± 1	11 ± 2
ПКЛ+15%НКЦ	321 ± 11	6 ± 1	5 ± 1	9 ± 1
ПКЛ+5%НКЦ–ПГлу ₃₅	512 ± 11	14 ± 1	13 ± 1	25 ± 1
ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу ₃₅	573 ± 34	14 ± 1	14 ± 1	17 ± 5
ПКЛ+15%НКЦ–ПГлу ₃₅	579 ± 11	12 ± 1	11 ± 1	9 ± 1

Изучение способности полученных плёнок к минерализации в модельных средах показало отсутствие окрашивания плёнок без наполнителя и интенсивное окрашивание материалов, содержащих НКЦ–ПГлу₃₅ (**Рисунок 8Г**). Результаты, полученные для плёнок на основе ПКЛ, совпадают с таковыми для композитов на основе ПЛЛА. Таким образом, улучшенная способность к минерализации материалов обусловлена наличием ПГлу на поверхности НКЦ.

Как и в случае материалов на основе ПЛЛА, была изучена гидролитическая деградация ПКЛ в процессе модельной минерализации (**Таблица 11**). Эксперимент показал, что спустя 7 месяцев инкубирования плёнок, наблюдается снижение ММ ПКЛ на 40 % и 52 % для композитов, содержащих НКЦ и НКЦ–ПГлу₃₅, соответственно (**Таблица 1 и 11**).

Таблица 11 — Деградация ПКЛ через 7 месяцев инкубирования образцов в водно-солевой среде

Образец ПКЛ	M_w	M_n	\bar{D}
содержащий 15%НКЦ	71 500	36 500	1.96
содержащий 15%НКЦ–ПГлу ₃₅	57 800	33 200	1.74

На следующем этапе работы для изготовления композиционных плёнок на основе ПКЛ в качестве наполнителей использовали 10 масс% НКЦ, НКЦ–ПГлу₃₅, НКЦ–ПГлу₅₆–Лиз, НКЦ–АПТЭС–ПГлу₅₆ и НКЦ–Геп мод. Первоначально для изготовления плёнок на основе ПКЛ в качестве растворителя использовали хлороформ. Однако, было установлено, что частичная замена хлороформа на ацетонитрил способствовала улучшению диспергируемости НКЦ в растворе полимера. В связи с этим, в дальнейшем для отливки плёнок в качестве растворителя использовали смесь хлороформ–ацетонитрил (50:50, об%) (CHCl₃–АЦН) (**Рисунок 9**).

Сравнение микрофотографий, полученных с использованием оптической микроскопии (**Рисунок 8А и 9**) для материалов, содержащих НКЦ и НКЦ–ПГлу₃₅, подтверждает улучшение

распределения частиц при использовании в качестве растворителя CHCl_3 -АЦН, но агрегация наполнителя все равно имеет место и более выражена в сравнении с другими материалами, полученными аналогично. Модификация НКЦ с использованием Геп мод., а также силанизация, способствуют равномерному распределению наполнителя, однако, добавление НКЦ–ПГлу₅₆–Лиз приводит к образованию агломератов наполнителя в массе ПКЛ.

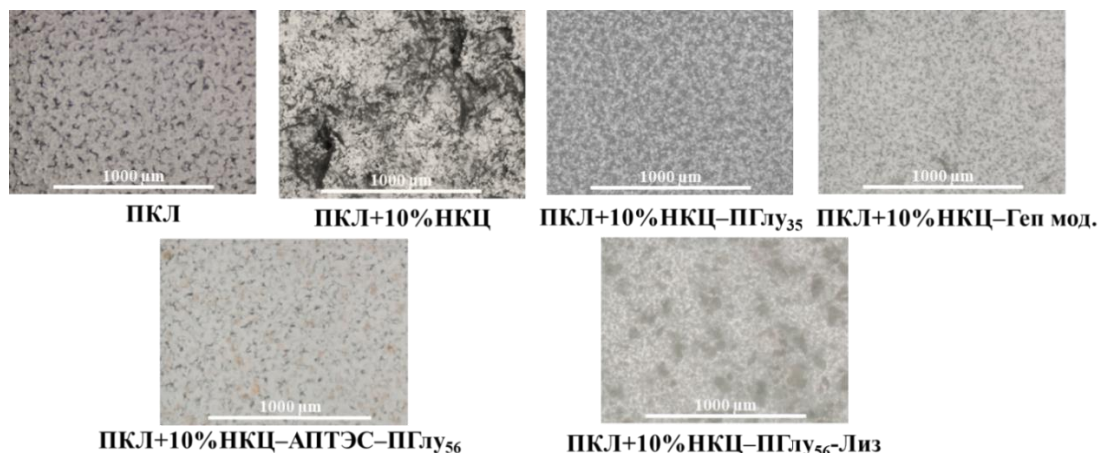


Рисунок 9 – Микрофотографии поверхности плёнок на основе ПКЛ

Сравнение результатов механических испытаний (**Таблица 10 и 12**) плёнок ПКЛ, ПКЛ+10%НКЦ, ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу₃₅ показывает, что при использовании системы CHCl_3 -АЦН наблюдается увеличение модуля упругости на 13 %, 58 % и 12 %, соответственно. Также, при использовании НКЦ–ПГлу₃₅ и НКЦ–Геп мод. наблюдается увеличение модуля упругости на 33 % и 10 %, по сравнению с ПКЛ+10%НКЦ. Однако, использование в качестве наполнителя НКЦ–ПГлу₅₆-Лиз приводит к снижению всех механических характеристик композита, в том числе, снижению модуля упругости на 25 %, что согласуется с данными микроскопии (**Рисунок 9**).

Таблица 12 — Механические свойства плёнок на основе ПКЛ (отливка плёнок из CHCl_3 -АЦН)

Образец	E (МПа)	σ_n (МПа)	σ_p (МПа)	ε_p (%)
ПКЛ	455 ± 15	15 ± 1	15 ± 1	18 ± 1
ПКЛ+10%НКЦ	488 ± 17	10 ± 1	10 ± 1	5 ± 1
ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу ₃₅	648 ± 27	14 ± 1	13 ± 1	18 ± 2
ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу ₅₆ -Лиз	364 ± 19	8 ± 1	8 ± 1	4 ± 1
ПКЛ+10%НКЦ–АПТЭС–ПГлу ₅₆	480 ± 21	14 ± 1	14 ± 1	5 ± 1
ПКЛ+10% НКЦ–Геп мод.	535 ± 21	12 ± 1	11 ± 1	9 ± 1

Результаты для композитов на основе ПКЛ, содержащих в качестве наполнителя немодифицированную НКЦ, согласуются с ранее опубликованными данными.

3.6.3 Плёнки на основе ПКЛ и частиц ОГ или АГ

В случае применения в качестве наполнителей для ПКЛ ОГ/АГ плёнки отливали из раствора в хлороформе. Морфология полученных пленок была изучена методом оптической микроскопии (**Рисунок 10А**). В качестве примера представлены пленки, содержащие 1 масс% частиц. Анализ изображений плёнок, содержащих нативный АГ, выявил формирование крупных агрегатов. Однако, использование модифицированных частиц снижает агрегацию наполнителя и способствует более однородному их распределению в матрице с увеличением содержания ПА на поверхности частиц. Исключением стала плёнка ПКЛ+1%АГ–ПГлу №4, для которой наблюдалась более выраженная агрегация наполнителя, что может быть связано с его более эффективной модификацией (**Таблица 5**) относительно других образцов, приводящей к значительной гидрофилизации поверхности АГ. Микроскопия плёнок, содержащих частицы ОГ, ОГ–Лиз–ПГлу и ОГ–ЭДА–ПГлу, показала схожую картину, а именно, более равномерное распределение модифицированных частиц наполнителя в массе ПКЛ (**Рисунок 10А**).

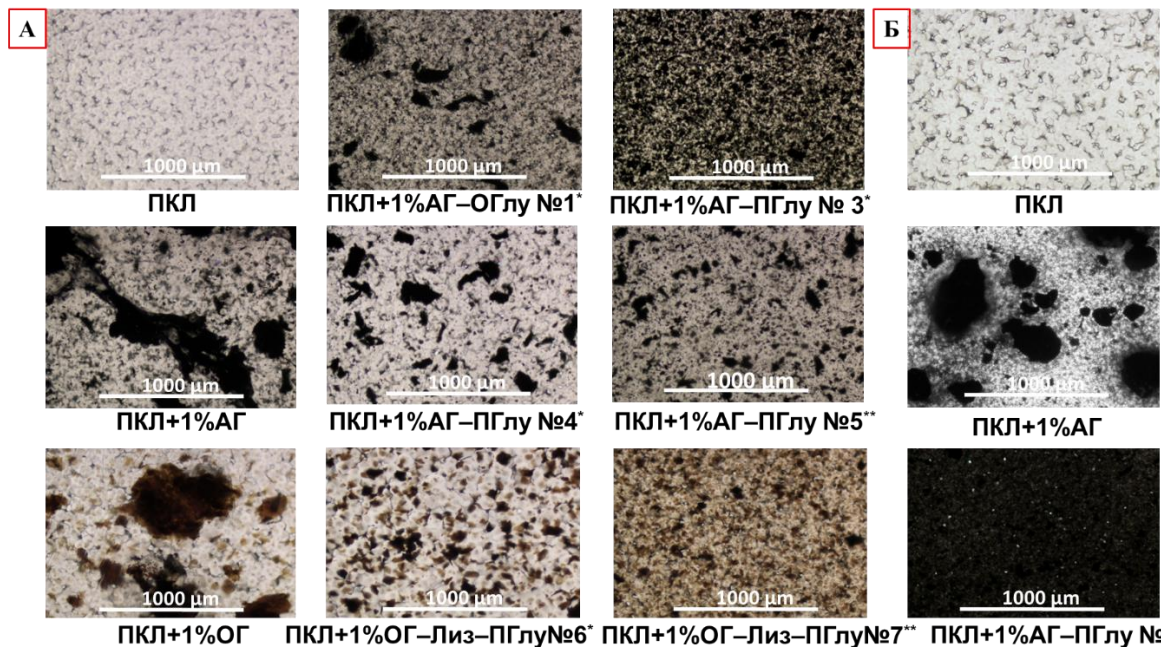


Рисунок 10 – Микрофотографии плёнок на основе ПКЛ: **А** – отливка плёнок из CHCl_3 ; **Б** – отливка плёнок из $\text{CHCl}_3\text{-АЦН}$ (* – «прививка от»; ** – «прививка на»)

Анализ данных механических испытаний (**Таблица 13**) показывает, что материалы, содержащие модифицированный АГ, демонстрируют повышение модуля упругости с увеличением содержания Глу на поверхности частиц, по сравнению с материалами, содержащими не модифицированный АГ, и, как следовало ожидать, композит ПКЛ+1%АГ–ПГлу **№4** характеризовался сниженными значениями модуля упругости (**Рисунок 10А**). Использование модифицированного ОГ в качестве наполнителя, во всех случаях, приводило к улучшению механических параметров материалов, как по сравнению с плёнками без наполнителя, так и с добавлением ОГ. Наилучшие механические свойства показывает композит ОГ–Лиз–ПГлу **№7**, в котором наблюдалось лучшее распределение частиц наполнителя.

Таблица 13 — Механические свойства плёнок на основе ПКЛ (отливка плёнок из хлороформа)

Образец	E (МПа)	σ_n (МПа)	σ_p (МПа)	ε_p (%)
ПКЛ	400 ± 30	15 ± 1	13 ± 1	24 ± 4
ПКЛ+1%АГ	350 ± 20	11 ± 1	12 ± 1	18 ± 2
ПКЛ+1%АГ–ОГлу №1 *	370 ± 21	13 ± 1	12 ± 1	23 ± 2
ПКЛ+1%АГ–ПГлу №3 *	520 ± 20	15 ± 1	15 ± 1	14 ± 1
ПКЛ+1%АГ–ПГлу №4 *	340 ± 30	13 ± 1	12 ± 1	19 ± 2
ПКЛ+1%АГ–ПГлу №5 **	510 ± 20	18 ± 1	13 ± 1	38 ± 5
ПКЛ+1%ОГ	383 ± 22	12 ± 1	12 ± 1	21 ± 2
ПКЛ+1%ОГ–ЭДА–ОГлу*	470 ± 22	15 ± 1	14 ± 1	22 ± 2
ПКЛ+1%ОГ–ЭДА–ПГлу**	489 ± 17	14 ± 1	14 ± 1	27 ± 2
ПКЛ+1%ОГ–Лиз–ПГлу №6 *	492 ± 31	14 ± 1	14 ± 1	12 ± 1
ПКЛ+1%ОГ–Лиз–ПГлу №7 **	514 ± 25	15 ± 1	15 ± 1	29 ± 3

* – «прививка от» поверхности; ** – «прививка на» поверхности

Поскольку пленка ПКЛ+1%АГ–ПГлу **№4**, полученная отливкой из CHCl_3 , продемонстрировала наихудшие механические свойства, на следующем этапе работы плёнка данного состава, по аналогии с НКЦ, была получена с использованием системы $\text{CHCl}_3\text{-АЦН}$. Для сравнения в таких же условиях были получены плёнки с/без наполнителя, для которых также была проведена оценка морфологии поверхности (**Рисунок 10Б**) и механические испытания (**Таблица 14**).

Согласно данным оптической микроскопии (**Рисунок 10Б**), использование смеси растворителей для получения плёнки ПКЛ+1%АГ–ПГлу №4 привело к равномерному распределению наполнителя в матрице ПКЛ, в отличие от нативного АГ. Сравнение результатов механических испытаний (**Таблица 13 и 14**) позволяет заключить, что замена растворителя практически не влияет на механические характеристики материала без наполнителя, однако, для плёнки ПКЛ+1%АГ наблюдается снижение модуля упругости на 16 %, по сравнению с плёнкой такого же состава, но полученной из CHCl_3 . Вместе с тем, для композита ПКЛ+1%АГ–ПГлу №4, полученного из смеси CHCl_3 -АЦН, модуль упругости возрос на 48 %, по сравнению с плёнкой того же состава, отлитой из хлороформа. Полученное значение модуля упругости для плёнки, изготовленной в оптимальных условиях, оказалось сопоставимо с параметрами других образцов, для которых наблюдалось равномерное распределение наполнителя в полимерной матрице.

Таблица 14 – Механические свойства плёнок на основе ПКЛ (отливка плёнок из CHCl_3 -АЦН)

Образец	E (МПа)	σ_n (МПа)	σ_p (МПа)	ε_p (%)
ПКЛ	455 ± 15	15 ± 1	15 ± 1	18 ± 1
ПКЛ+1%АГ	295 ± 12	9 ± 1	9 ± 1	19 ± 1
ПКЛ+1%АГ–ПГлу №4	503 ± 12	15 ± 1	15 ± 1	15 ± 1

Как и в случае материалов, содержащих НКЦ, так и для композитов, содержащих ОГ/АГ, была изучена способность материалов к минерализации в модельных средах с последующим окрашиванием флуоресцентным специфическим красителем (кальцеин, $\lambda = 530$ нм) для визуализации отложений кальция (**Рисунок 11**). Анализируя изображения, полученные с использованием оптической микроскопии, можно видеть, что плёнка ПКЛ без наполнителя не окрашивалась кальцеином, что указывает на отсутствие минеральных отложений на поверхности материала. Для плёнок, содержащих частицы нативного ОГ/АГ, наблюдается слабое окрашивание некоторых зон, что связано с содержанием собственных –COOH групп на поверхности частиц, которые обеспечивают связывание ионов Ca^{2+} . Однако, при использовании в качестве наполнителя модифицированных частиц наблюдается значительное увеличение интенсивности окрашивания, что согласуется с результатами, описанными выше для композитов с НКЦ, и подтверждает положительную роль ПГлу в улучшении процесса минерализации.

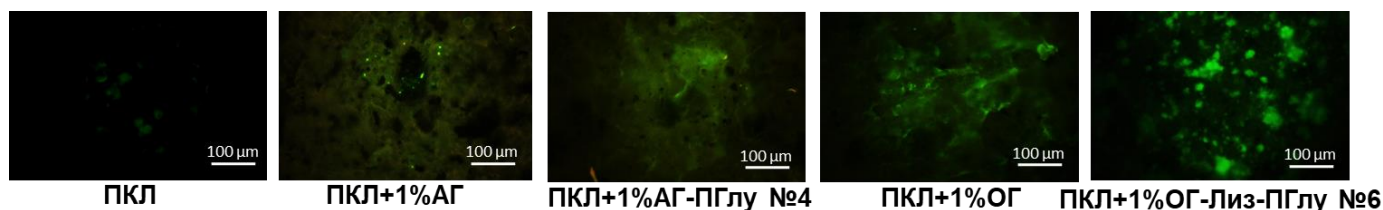


Рисунок 11 – Оптическая микроскопия плёнок на основе ПКЛ после окрашивания кальцеином

Как и в остальных случаях, для материалов, содержащих ОГ/АГ, была проведена оценка гидролитической деградации ПКЛ в процессе модельной минерализации (**Таблица 15**).

Таблица 15 — Деградация ПКЛ через 9 месяцев инкубирования образцов в водно-солевой среде

Образец ПКЛ	M_w	M_n	\bar{D}
без наполнителя	48 600	25 800	1.88
содержащий 1%АГ	55 200	29 100	1.73
содержащий 1%АГ–ПГлу №4	33 700	20 000	1.69
содержащий 1%ОГ	39 100	21 600	1.81
содержащий 1%ОГ–Лиз–ПГлу №6	34 400	22 600	1.52

Полученные данные свидетельствуют о том, что, спустя 9 месяцев инкубирования плёнок, ММ исходного ПКЛ снижается на 60 %. Сравнительный анализ композиционных материалов выявил различное влияние наполнителей на ММ ПКЛ. Добавление ОГ приводит к снижению M_w на 20 %, по сравнению с ненаполненным полимером, а при введении АГ деградация ПКЛ была

менее интенсивной, что объясняется его более гидрофобной природой по сравнению с ОГ. Однако, использование в качестве наполнителей модифицированные ОГ/АГ приводит к наибольшему снижению ММ ПКЛ по сравнению с композитами, содержащими нативные частицы.

Таким образом, на основании анализа данных о свойствах полученных композиционных плёнок для дальнейшей работы по изготовлению 3D-матриц в качестве матричного полимера был выбран ПКЛ, а в качестве наполнителей НКЦ–ПГлу₃₅ и АГ–ПГлу №4.

3.7. 3D-матрицы

На основе разработанных составов методом послойной 3D-печати была получена серия композиционных 3D-матриц – ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу₃₅ и ПКЛ+0.5%АГ–ПГлу №4. Матрицы представляли собой шестигранники диаметром 6 или 4 мм и высотой от 1 до 3 мм в зависимости от цели исследования (**Рисунок 12А**). Шероховатость поверхностей полученных 3D-матриц анализировали методом СЭМ (**Рисунок 12Б**). При анализе изображений матриц, содержащих НКЦ, наблюдается наличие некоторых неровностей на поверхности филамента, напоминающих «шипы», которые, скорее всего, являются агрегатами целлюлозы. В случае использования НКЦ–ПГлу₃₅ полимерные нити имели более гладкую поверхность. В свою очередь, 3D-матрицы, содержащие в качестве наполнителя АГ и АГ–ПГлу, характеризовались гладкой поверхностью.

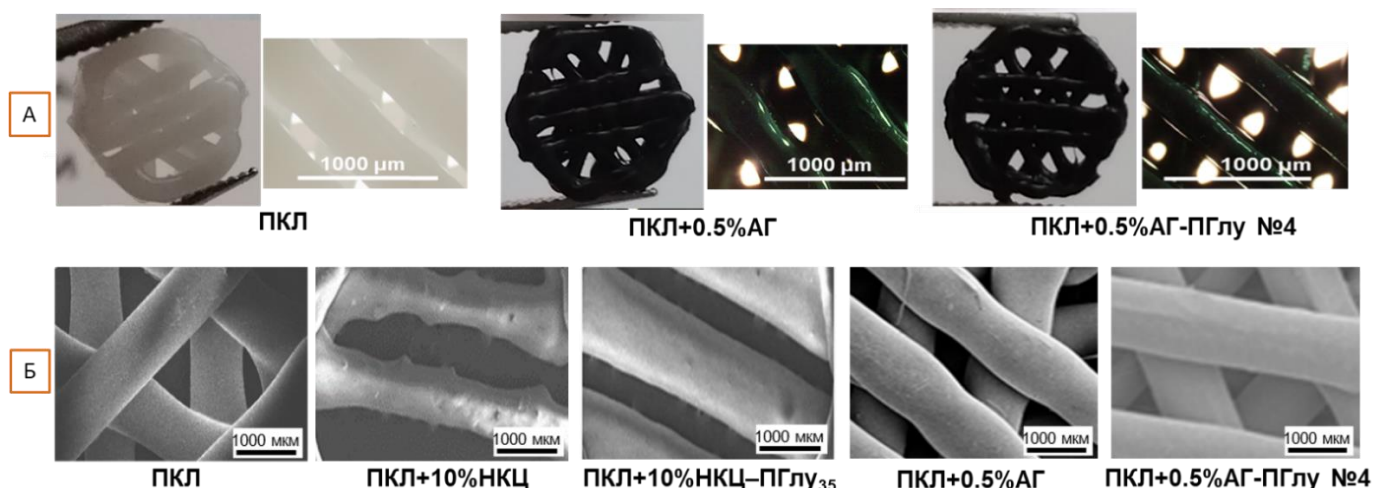


Рисунок 12 – Фотографии (А) и микрофотографии СЭМ (Б) полученных 3D- матриц

Для матриц, полученных методом 3D-печати, были изучены механические свойства изделий в режиме одноосного сжатия. Кроме того, для оценки влияния наполнителей на свойства самого полимерного композита в тестах на сжатие были исследованы механические свойства непористых цилиндров (5 × 10 мм), полученных методом горячего прессования. Для изготовления пористых 3D-матриц использовали разные экструдеры (пневматический или поршневого), что связано с ограничением компрессора пневматического экструдера, поэтому сравнение механических характеристик данных изделий корректно проводить относительно ненаполненного ПКЛ, изготовленного аналогичным способом. В процессе испытаний определяли модуль упругости (E), максимальное усилие ($F_{\text{макс}}$) и максимальное напряжение ($\sigma_{\text{макс}}$) (**Таблица 16**).

Механические испытания пористых изделий не выявили статистической разницы в характеристиках 3D-матриц на основе ПКЛ и ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу₃₅. Однако, для композиционных монолитов наблюдалось улучшение механических параметров, по сравнению с ненаполненным ПКЛ (увеличение модуля упругости на 36 % и максимального усилия на 47 %). Такие различия обусловлены тем, что в случае монолитов результаты механических испытаний отражают свойства самого материала, тогда как в случае матриц, полученных методом 3D-печати, свойства изделий. В случае 3D-матриц ПКЛ+0.5%АГ–ПГлу наблюдается увеличение модуля упругости, максимального усилия и напряжения сжатия на 131 %, 68 % и 76 %, соответственно, по сравнению с ненаполненным ПКЛ. Для монолитных материалов данного состава механические параметры оказались близки к таковым, определенным для ненаполненного ПКЛ.

Таблица 16 — Механические свойства на сжатие 3D-матриц на основе ПКЛ

Образец	E (МПа)	$F_{\text{макс}}$ (кН)	$\sigma_{\text{макс}}$ (МПа)
3D-печать пневматическим экструдером			
ПКЛ	122 ± 46	2.06 ± 0.33	41 ± 6
ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу ₃₅	101 ± 29	2.13 ± 0.26	42 ± 6
3D-печать поршневым экструдером			
ПКЛ	26 ± 7	1.06 ± 0.18	29 ± 4
ПКЛ+0.5%АГ–ПГлу №4	60 ± 10	1.78 ± 0.23	51 ± 9
Монолитные матрицы, полученные методом горячего прессования			
ПКЛ	258 ± 17	10.46 ± 0.46	128 ± 6
ПКЛ+10%НКЦ	353 ± 21	15.38 ± 0.19	134 ± 2
ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу ₃₅	352 ± 27	15.59 ± 0.15	136 ± 1
ПКЛ+0.5%АГ	299 ± 46	11.57 ± 0.22	143 ± 3
ПКЛ+0.5%АГ–ПГлу №4	255 ± 10	11.49 ± 0.21	140 ± 9

Механические свойства 3D-матриц, предполагаемых для использования в остеопластике, напрямую определяют способность выполнять поддерживающую функцию и выдерживать механическую нагрузку на начальных этапах после имплантации. Известно, что для трабекулярной костной ткани значения модуля упругости (при растяжении) составляют от 20 МПа до 8000 МПа. Полученные нами значения варьируются от 300 МПа до 650 МПа (Таблица 10, 12–14) и доходят до ~ 3000 МПа (Таблица 8), что соответствует модулю упругости трабекулярной костной ткани большеберцовой кости, плечевой кости, позвонков и коленной чашечки. Значения предела прочности костной ткани составляет от 1 МПа до 150 МПа. В нашем случае, для полученных композитов значения данного параметра варьируются от 6 МПа до 18 МПа и соответствуют перечисленным выше видам костей. Значения модулей упругости (при сжатии), лежащие в области 100 МПа (Таблица 16), подходят для восстановления дефектов трабекулярной кости человека, данный параметр которой составляет 90 МПа. Для сравнения, согласно литературным данным, модули сжатия пористых 3D-печатных матриц на основе ПКЛ и ПЛА и их композитов, содержащих гидроксипатит, находятся в диапазоне от 23 МПа до 77 МПа.

3.8 Биологические свойства индивидуальных компонентов и композитов

Согласно литературным данным, НКЦ, Геп и ПГлу являются биосовместимыми молекулами, а графен способен повреждать клетки млекопитающих, тогда как его производные, не проявляют заметной цитотоксичности. Таким образом, для частиц ОГ/АГ, использованных в работе в качестве наполнителей, было проведено изучение цитотоксичности *in vitro* (МТТ-тест) с использованием остеобласто-подобных клеток в течение 72 ч в диапазоне концентраций частиц от 0.004 до 1 мг/мл. Согласно критериям протокола ISO EN 10993-5, цитотоксическим эффектом считается снижение жизнеспособности клеток более, чем на 30 %. Результаты анализа показали, что для образцов ОГ–ЭДА–ОГлу выживаемость ≥ 70 % наблюдалась вплоть до концентрации 0.125 мг/мл, а для ОГ–Лиз–ОГлу №2 и №5, АГ, АГ–ПГлу №2 и ОГ–Лиз–ПГлу №8 – до 0.25 мг/мл.

Полученные материалы были исследованы на способность адгезировать клетки. Адгезия мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на поверхности материалов до их имплантации способствует усилению остеогенеза. Результаты исследования полученных плёнок и 3D-печатных матриц демонстрируют, что при введении в матрицу ПЛЛА/ПКЛ нативных или модифицированных частиц, приводит к получению биосовместимых материалов, не обладающих токсичностью и на их поверхности успешно адгезируются МСК.

С целью изучения способности композитов к биоминерализации проводили остеогенное дифференцирование МСК, адгезированных на поверхности плёнок, после завершения которой визуализировали минеральные отложения путём окрашивания ализариновым красным С или

кальцеином. Изучение образцов с помощью микроскопии выявило, что наибольшее количество минеральных отложений соответствует композитам, содержащим НКЦ–ПГлу₃₅, НКЦ–ПГлу₅₆–Лиз, НКЦ–Геп мод., АГ–ПГлу №4 и ОГ–Лиз–ПГлу №5. Исследование 3D-матриц также продемонстрировало наиболее интенсивное окрашивание материалов, содержащих модифицированную НКЦ и АГ. Дополнительно для 3D-матриц, содержащих НКЦ, количество кальция определили методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. Для образцов ПКЛ и ПКЛ+10%НКЦ содержание кальция составляло 0.07 ат%, а для ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу₃₅ — 0.62 ат%. В случае 3D-матриц, содержащих АГ, было проведено исследование активности щелочной фосфатазы (АЩФ). Обнаружено, что в случае матриц ПКЛ, ПКЛ+0.5%АГ и ПКЛ+0.5%АГ–ПГлу АЩФ составляет 0.16, 0.35 и 0.60 мЕд/мл, соответственно, что указывает на наиболее эффективное формирование костной ткани, для композита, содержащего АГ–ПГлу.

Биологическая апробация разработанных композитов *in vivo* была проведена на базе ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ. Подопытных кроликов поделили на четыре экспериментальные группы, в которых были импантированы матрицы из ПКЛ (группа 1) и его композит с 10 % НКЦ–ПГлу (группа 3) и матрицы тех же составов, содержащие дополнительно адгезированные на их поверхности МСК костного мозга кролика (группы 2 и 4, соответственно). Результаты анализа гистологических срезов и изображений, полученных с помощью микро-КТ, в группах 1 и 3 (ПКЛ и ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу без предварительной адгезии клеток, соответственно), спустя 3 месяца имплантации значительных изменений, по сравнению со сроком 1 месяц, не наблюдалось. Однако, в группе 2 и 4 (ПКЛ+МСК и ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу+МСК, соответственно), спустя 1 и 3 месяца, наблюдалось формирование большего объёма костной ткани. Также, через 1 месяц после операции в области имплантации матриц в группах 1 и 3 детектировался небольшой отёк, тогда как на тех же скаффолдах (матрицах с адгезированными МСК) такого эффекта не наблюдалось. Гистоморфометрический анализ показал, что при использовании имплантата ПКЛ, спустя 1 месяц, восстановление костного дефекта составляло ~ 10 %, а при использовании ПКЛ+МСК — 21 %. В то же время, при использовании ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу в качестве имплантата данный параметр составил 29 %. Однако, наиболее значимый результат наблюдался в случае ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу+МСК, в котором через 1 и 3 месяца после имплантации наблюдалось 35 % и 55 % восстановления костного дефекта. Кроме того, результаты оценки толщины фиброзной капсулы, образующейся вокруг имплантата, свидетельствуют о формировании тонкой фиброзной капсулы для материалов, содержащих частицы НКЦ–ПГлу, что говорит о низкой токсичности и высокой биосовместимости такой 3D-матрицы для окружающих тканей.

Таким образом, по совокупности результатов, полученных в диссертационной работе, можно заключить, что матрицы ПКЛ+10%НКЦ–ПГлу, изготовленные методом 3D-печати, имеют значительный потенциал в качестве остеопластических материалов.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Разработаны методы химической модификации нанокристаллической целлюлозы предварительно синтезированными и охарактеризованными амфифильными производными поли(глутаминовой кислоты) и гепарина. Сравнительный анализ модифицированных образцов показал, что наиболее эффективным является метод, основанный на взаимодействии аминогрупп полианионов с альдегидными группами, предварительно сгенерированными на поверхности нанокристаллической целлюлозы путем окисления вицинальных диолов.
2. Впервые предложены способы химической модификации частиц аминированного и окисленного графена поли(глутаминовой кислотой). Установлено, что наиболее эффективно модификация протекала в условиях прививки полимера «от поверхности», основанной на полимеризации с раскрытием цикла *N*-карбоксихидрида γ -бензилового эфира

L-глутаминовой кислоты, инициируемой первичными аминогруппами, находящимися на поверхности частиц производных графена.

3. Показано, что введение в матрицу поли(ϵ -капролактона) или поли(L-лактида) частиц нанокристаллической целлюлозы или производных графена, модифицированных полианионами, позволяет получать более однородные материалы с улучшенными механическими характеристиками по сравнению с композитами на основе немодифицированных наполнителей.
4. Установлено, что композиты на основе поли(ϵ -капролактона) или поли(L-лактида), содержащие наполнитель, модифицированный полианионами, стимулируют формирование минеральных отложений на своей поверхности. При этом, введение наполнителя не оказывает влияние на скорость деградации материалов на основе поли(L-лактида), но ускоряет гидролитическую деградацию поли(ϵ -капролактона).
5. С использованием наиболее оптимальных композиций из поли(ϵ -капролактона) и частиц модифицированного и немодифицированного наполнителя изготовлена серия трехмерных матриц. Показано, что полученные материалы демонстрируют механические параметры, соответствующие некоторым видам костной ткани. Кроме того, композиционные материалы, содержащие частицы наполнителя, модифицированные поли(глутаминовой кислотой), показали улучшенные биологические свойства в испытаниях *in vitro*.
6. Апробация полученных методом 3D-печати трехмерных матриц на основе поли(ϵ -капролактона), содержащего 10 масс% нанокристаллической целлюлозы, модифицированной амфифильным производным поли(глутаминовой кислоты), в условиях *in vivo* подтвердила высокую биосовместимость и эффективность разработанного композиционного материала в процессах регенерации костной ткани.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ОТРАЖЕНО В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ:

1. Stepanova, M. Composite biomaterials based on poly(L-Lactic acid) and functionalized cellulose nanocrystals / M. Stepanova, I. Averianov, **O. Solomakha**, N. Zabolotnykh, I. Gofman, M. Serdobintsev, T. Vinogradova, V. Korzhikov-Vlakh, E. Korzhikova-Vlakh // Journal of Renewable Materials. – 2020. – V. 8. – № 4. – P. 383 – 395. DOI: 10.32604/jrm.2020.09206
2. Stepanova, M. Aminated Graphene-Graft-Oligo(Glutamic Acid)/Poly(ϵ -Caprolactone) Composites: Preparation, Characterization and Biological Evaluation / M. Stepanova, **O. Solomakha**, M. Rabchinskii, I. Averianov, I. Gofman, Y. Nashchekina, G. Antonov, A. Smirnov, B. Ber, A. Nashchekin, E. Korzhikova-Vlakh // Polymers. – 2021. – V. 13. – № 16. – P. 2628. DOI: 10.3390/polym13162628
3. Averianov, I. 3D-Printed composite scaffolds based on poly(ϵ -caprolactone) filled with poly(glutamic acid)-modified cellulose nanocrystals for improved bone tissue regeneration / I. Averianov, M. Stepanova, **O. Solomakha**, I. Gofman, M. Serdobintsev, N. Blum, A. Kaftuirev, I. Baulin, J. Nashchekina, A. Lavrentieva, T. Vinogradova, V. Korzhikov-Vlakh, E. Korzhikova-Vlakh // Journal of Biomedical Materials Research. – 2022. – V. 110. – № 11. – P. 2422 – 2437. DOI: 10.1002/jbm.b.35100
4. **Solomakha, O.** Composites Based on Poly(ϵ -caprolactone) and Graphene Oxide Modified with Oligo/Poly(Glutamic Acid) as Biomaterials with Osteoconductive Properties / **O. Solomakha**, M. Stepanova, I. Gofman, Y. Nashchekina, M. Rabchinskii, A. Nashchekin, A. Lavrentieva, E. Korzhikova-Vlakh // Polymers. – 2023. – V. 15. – № 12. – P. 2714. DOI: 10.3390/polym15122714
5. **Solomakha O.** Chemical Modification of Nanocrystalline Cellulose for Manufacturing of Osteoconductive Composite Materials / **O. Solomakha**, M. Stepanova, A. Dobrodumov, I. Gofman, Y. Nashchekina, A. Nashchekin, E. Korzhikova-Vlakh // Polymers. – 2024. – V. 16. – № 13. — P. 1936. DOI: 10.3390/polym16131936
6. Stepanova M. Composite Scaffolds Based on Poly(ϵ -Caprolactone) and Functionalized Aminated Graphene for Bone Regeneration. / M. Stepanova, **O. Solomakha**, M. Rabchinskii, I. Gofman, Y. Nashchekina, A. Nashchekin, E. Inshakov, N. Shevchenko, E. Korzhikova-Vlakh. // Emergent Materials. –2025. – V. 8. – P. 1035 – 1054. DOI: 10.1007/s42247-024-00804-z